Lane Medical Library

7661 9

„ONDERSOEKINGS OOR DIE WERKSAME STOWWE VAN VERSKILLENDE GRAMINEEËNPOLLENS VOLGENS DIE DALE METODE"

B. S. VERMEULEN

Groningen

„ONDERSOEKINGS OOR DE WERKSAME STOWWE
VAN VERSKILLENDE GRAMINEEËNPOLLENS
VOLGENS DIE DALE METODE"

„ONDERSOEKINGS OOR DIE WERKSAME STOWWE VAN VERSKILLENDE GRAMINEEËNPOLLENS VOLGENS DIE DALE METODE"

PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DEN GRAAD VAN DOCTOR IN DE GENEESKUNDE AAN DE RIJKSUNIVERSITEIT TE GRONINGEN, OP GEZAG VAN DEN RECTOR-MAGNIFICUS DR. H. J. BACKER, HOOGLEERAAR IN DE FACULTEIT DER WIS- EN NATUURKUNDE, TEGEN DE BEDENKINGEN VAN DE FACULTEIT DER GENEESKUNDE TE VERDEDIGEN OP WOENSDAG, 29 OCTOBER 1930, DES NAMIDDAGS TE 4 UUR

DOOR

BENJAMIN STROBOS VERMEULEN
ARTS
GEBOREN TE SUTHERLAND, K. P., ZUID AFRIKA

M. DE WAAL — 1930 — GRONINGEN

AAN DIE NAGEDAGTENIS VAN MY OUERS
AAN MY OUDSTE BROER

Die verskyning van hierdie proefskrif bied my 'n welkom geleentheid om U, Hoogleerare, Oud-Hoogleerare en Lektore van die Mediese en Natuur-Filosofiese Fakulteite van die Groningse Uniewersiteit, my dank te betuig vir die onderwys wat ek van U geniet het.

Veral U, Hooggeleerde BENJAMINS, Hooggeagte Promotor, is ek baie dank verskuldig vir die wyse waarop U my gehelp het by die bewerking van hierdie proefskrif, en ook vir U bereidwilligheid om my steeds met raad en daad by te staan. Besonder dank is ek U ook verskuldig vir die voorreg wat ek gehad het om by U assistent te wees en vir die uitstekende leiding en vorming, wat ek as sodanig van U ontvang het. U toewyding aan U pasjente, U voortreflike mensekennis en U liefde vir U vak, het ek steeds bewonder.

U, seergeleerde HUIZINGA, bedank ek vir U hulp en goeie raadgewings tydens my assistentskap.

Ook U, seergeleerde BRINKMAN, seergeleerde VAN DER ZOO DE JONG, my vriendelike dank vir U meewerking.

Mag ek U, Mejuffrou BENJAMINS, hier my opregte dank betuig vir die buitegewone vriendelikheid om my proefskrif persklaar te maak.

Die Mediese Fakulteit bedank ek, dat dit my toegestaan is om hierdie proefskrif in my moedertaal te skryf.

U, beste VOLCKMANN, is ek dank verskuldig vir die oplossing van die tegniese moeilikhede.

Dis my ook 'n groot vreugde om hier my dankbaarheid te kan uit, vir die loyale wyse waarop die „Nederlandsch Zuid-Afrikaansche Vereeniging" my steeds met raad en steun bygestaan het.

Tenslotte 'n woord van dank aan almal, wat behulpsaam was by die bewerking van hierdie proefskrif.

INHOUD.

Bls.

INLEIDING 1

HOOFSTUK I.

Literatuur oorsig.

§ 1. Oor die proef van Dale 3

§ 2. Anafilaksie en allergie by Guinese biggies 6

§ 3. Oor die pollenallergie 9

a) pollenallergie oor die algemeen 9

b) pollenallergie en die proef van Dale 15

HOOFSTUK II.

Eie ondersoek 19

Metodiek 19

a) Die proef van Dale met vooroefening serum diere 23

b) besware 23

Opheffing van te grote uterus kontraksies. 24

a) deur die kontragewig te verswaar 25

b) deur toevoeging van sedativa 26

c) ovariotomie en bestraling van die ovaria 27

d) wysiging in die samestelling van die Dale-Ringer 29

e) die uterushoorns nie direk na die dood verwijder nie 31

HOOFSTUK III.

Resultate 32

§ 1. Guinese biggies voorbehandel met normale perdeserum 34

A. Diere alleen met perdeserum ingespuit 35

B. Reekse bestraal en perdeserum ingespuit . . . 37

C. Reekse ovariotomie verrig en perdeserum ingespuit 38

Bls.

§ 2. Guinese biggies ingespuit met graspollenekstrakte 39
A. Hooieters en ingespuit met pollenekstrakte van
a) Rogge 40
b) Holcus mollis 41
c) Dactylis glomerata 42

B. Guinese biggies op garsstrooi, grasvry en gramineeënvry voedsel en ingespuit met pollenekstrakte van
a) Holcus mollis 43
b) Rogge plus Festuca rubra 43
c) Cynosurus cristatus 44

C. Guinese biggies op turfstrooisel, grasvry en gramineeënvry voedsel en ingespuit met pollenekstrakte van
a) Dactylis glomerata 45
b) Alopecurus pratensis 45
c) Phleum pratense 46

D. Guinese biggies op 'n uitgesoekte grassoort, verder grasvry en gramineeënvry voer en ingespuit met die gelyksoortige pollenekstrak.
a) Alopecurus pratensis 47
b) Dactylis glomerata 47

§ 3. Guinese biggies sonder inspuitings 48
A. Hooieters 48
B. Op turfstrooisel, grasvry en gramineeënvry voer 48
C. Op garsstrooi, grasvry en gramineeënvry voer 49
D. Op Phleum pratense, verder grasvry en gramineeënvry voer 50
E. Op garsstrooi, gevoer met brood, hawer, suikerbiete 50

§ 4. Guinese biggies op 'n uitgesoekte grassoort en toevoering per os van die gelyksoortige pollenekstrak
A. Dactylis glomerata 50
B. Lolium perenne 51

§ 5. Ondersoekings oor histaminagtige stowwe in Roggepollenekstrakte 51

Bls.

HOOFSTUK IV.

Bespreking van die resultate.

§ 1. Die vraag oor die soortspesiwisiteit van die graspollens 63

§ 2. Die rol wat die voeding speel by caviae met betrekking tot die pollenoorgevoeligheid 64

§ 3. Die invloed van alimentêre en tewens parenterale toediening van die werksame stowwe 68

HOOFSTUK V.

Samevatting 70

Summary 72

INLEIDING.

In die „Nederl. tijdschrift voor Geneesk. 1923. 1 Bldz. 330, 1924. 1. Bldz. 2838" spreek Benjamins, Idzerda en Uittien hulle mening oor die werksame stowwe van die verskillende graspollens as volg uit: „Wij meenden proefondervindelijke aanwijzingen uit de huidreacties van hooikoortslijders te hebben gevonden, dat alle pollensoorten enkele proteinen gemeen hebben, terwijl de afzonderlijke gramineeën bovendien spesifiek werkende stoffen bevatten, onderling verschillend in hoedanigheid."

Hierdie uitspraak is aanleiding vir my gewees om te probeer hieroor meer te wete te kom. Om dit te kan doen, beskik ons oor twee metodes. Die een metode is die volgens PRAUSNITZ en KÜSTNER [1]): 'n Bepaalde huidplek van 'n gesonde persoon kan passief oorgevoelig gemaak word vir 'n sekere stof deur op hierdie plek 'n intrakutane inspuiting te maak van serum van 'n pasjent, wat vir die stof oorgevoelig is. Volgens die metode het 'n klein aantal ondersoekers [2]) baie belangrike resultate bereik oor die gemeenskaplikheid en spesiwisiteit van verskillende graspollens.

Die ander metode is die volgens DALE [3]), waardeur Guinese biggies aktief oorgevoelig gemaak kan word met 'n bepaalde antigeen. Die gladde spierweefsels, en veral die virginale uterus in vitro, reageer dan spesifiek as dit in aanraking kom met 'n baie klein hoeveelheid van die antigeen, en nie op die van ander opgeloste eitwitsoorte nie. Dat Guinese biggies vir hierdie metode die beste proefdiere geblyk het, het die ervaring die ondersoekers geleer, wat

---

1) Centralbl. f. bakt. orig. 1921, 86, 160.

2) COCA en GROVE. Jl. of Immun. Vol. X, 1925, page 458.
BENJAMINS, IDZERDA en NIENHUIS. Nederl. Tijdschrf. v. Gen. 1929, 1, 145.

3) The Jl. of Pharmac. & Exp. Therap. Vol. IV, 1912, 84.

ook ander diersoorte vir die proewe probeer het. So is dit ook bekend geraak dat konyne vir die proewe nie geskik is nie. Belangrik is daarenteen weer, dat die ondersoekers gemaklik die aanwesigheid van presipitine in die sera van konyne kon aantoon, terwyl volgens die meeste ondersoekers dit met Guinese biggies beswaarlik of heeltemal nie moontlik is nie. So het ook geblyk dat rotte heeltemal nie geskik is vir die proewe, deurdat hulle nie oorgevoelig gemaak kan word met dierlike eiwitte nie [1]). In teenstelling met die uitgebreide ondersoekings, wat gedoen is met die dierlike eiwitsoorte volgens die Dale metode, het baie min ondersoekers hierdie metode gebruik om die werksame stowwe van die graspollens te ondersoek. Hieroor kry 'n mens in die literatuur dan ook maar baie vae gegewens. Die belangrikste ondersoekings is die gewees van WALZER en GROVE [2]) in 1925.

Hulle het alleen gewerk met die pollens van Phleum pratense en Ambrosia. Die rede waarom hulle hierdie twee pollens gekies het vir hulle eksperimente is, omdat die twee plantsoorte die vernaamste verwekkers van hooikoors in Amerika is; naamlik Phleum pratense vir die voorjaars — en Ambrosia trifida vir die najaarshooikoors. Dis hulle geluk om die spesiwisiteit van die twee pollens aan te toon. Ook hulle het probeer om die aanwesigheid van presipitine aan te toon in die sera van Guinese biggies, wat voor die tyd oorgevoelig gemaak is, maar sonder sukses. WALZER en GROVE het die ander grassoorte nie ondersoek en dus ook nie 'n vergelyking tussen die pollen soorte onderling nie.

Die doel van hierdie proefskrif is gewees om te sien, of 'n mens volgens die Dale metode die soort spesiwisiteit, wat betref die werksame stowwe van pollens kan aantoon. Hoewel nie heeltemal 'n bevredigende oplossing gevind is nie, het die ondersoekings tog nuwe en waardevolle resultate opgelewer, wat meegedeel sal word in die volgende hoofstukke.

---

[1]) Ondersoekings van SPAIN en GROVE. Jl. of Immun. Vol. X, 1925, 433.

[2]) Journl. of Immun. Vol. X, 1925, 517.

HOOFSTUK I.

LITERATUUR OORSIG.

§ 1. Oor die proef van dale.

Dale [1]) is die eerste gewees wat die virginale uterus, in vitro, van Guinese biggies gebruik het vir proewe oor anafilaksie en immuniteit. Vernaamlik jong wyfie Guinese biggies het hy gebruik vir die proewe, omdat die uterusspiere van ouere Guinese biggies en van 'n sekere gewig te grote spontane skommelinge gemaak het.

Die Guinese biggies het hy ingespuit met 'n geringe hoeveelheid, bevoorbeeld $^1/_{10}$ cm^3 van 'n vreemde dierlike eiwitsoort. Na 'n inkubasie tyd van 14 dae en langer is die diere gebruik vir die proewe. Hy het egter grotendeels gewerk met Guinese biggies wat oorgevoelig was vir perdeserum. Dit was dan Guinese biggies wat injeksies, vir die standaard bepalinge van difterie antitoksin perdeserum en toksin, oorleef het. Een aldus van te vore ingespuite Guinese biggie word dood gemaak met 'n nekslag en direk daarna of na deurstroming met vloeistof van Ringer vanuit die aorta, die hoorns van die uterus uitgeneem en in Ringer vloeistof van 37° C. geplaas. Die opbou van die toestel en metodiek volgens Dale word in hoofstuk II aangegee. Volgens hierdie metode het Dale ons kennis baie vermeerder oor anafilaksie en immuniteit by Guinese biggies. Enkele van die vernaamste gegewens is:

1e. Dat die virginale uterushoorn wat in die vloeistof van Ringer geplaas word geringe spontane skommelinge

[1]) Dale en Laidlaw en Dale alleen. Jl. of Pharmacol. and Exp. Therap. Vol. IV. Bds. 75 en 167. 1912/'13.

maak. As die dier met 'n bepaalde dierlike eiwitsoort voorbehandel was, dan reageer die uterusspier, in vitro, by aanraking met 'n kleine hoeveelheid van die spesifieke antigeen deur maksimale kontraksie *en nie op die ander eiwitsoorte nie,* terwyl die uteri, van nie voorbehandelde diere nie, op *geeneen van die eiwitte reageer nie. Die „reaksie van Dale" is dus spesifiek.*

2e. Dat die spesifieke reaksies tussen antigene en antiliggame by 'n anafilakties gemaakte Guinese biggie afspeel *intrasellulêr,* in die gladde spierweefsels soos aantoonbaar was met die uterusspiere. Dit het geblyk n.l. dat volkome bloedlose uterusspiere verkry met deurstroming van RINGER oplossing vanuit die aorta, vóór verwydering, maksimaal saamgetrek het by aanraking met die spesifieke antigeen.

3e. *Dat by immuun gemaakte Guinese biggies die uterusspiere, in vitro, net so gevoelig gewees is vir die spesifieke antigene as by anafilakties gemaakte diere.* Die gevolgtrekking is dan ook gewees dat by 'n immuun gemaakte Guinese biggie die weefsel selle nie ongevoelig geword het nie, maar deur 'n oorvloedige produksie van antiliggame deur die selle, dit ook afgestaan word aan die bloedbaan, en die sirkulerende stowwe die dier by 'n ewentuele intraweneuse inspuiting van die spesifieke antigeen vrywaar van „shock".

4e. Het dit geblyk dat as 'n Guinese biggie doodgegaan het in 'n anafilaktiese „shock" dat die uterusspier, in vitro, ongevoelig geword het vir die spesifieke antigeen.

5e. *Dat die desensibilisasie ook in vitro optree* as 'n dosis van die spesifieke antigeen toegevoeg word in voldoende konsentrasie om 'n maksimale reaksie te veroorsaak. Elke verdere toevoeging van spesifieke antigeen, ook van baie grotere doses, gee nie meer reaksie nie.

6e. Dat by anafilakties gemaakte Guinese biggies, presipitine nie aantoonbaar gewees is nie in die bloed sera, terwyl dit wel geluk het by immuun gemaakte Guinese biggies.

Eintlik is die metode van DALE alleen 'n verbetering van

die metode van SCHULTZ, [1]) wat reeds in 1909 dergelike proewe verrig het met stukkies derms, in vitro, van Guinese biggies, sodat sommige dan ook spreek van die SCHULTZ-DALE metode.

Verder het dit DALE en HARTLEY [2]) ook geluk om die spesiwisiteit vir die afsonderlike eiwitbestanddele van perdeserum aan te toon. Dit het naamlik geblyk dat uterusspiere van Guinese biggies wat ingespuit was met euglobulien oorgevoelig geword het daarvoor en nie vir globulien en pseudoglobulien nie, en vice versa. Ook het hulle gemerk dat as 'n geringe hoeveelheid van die volle perdeserum by Guinese biggies ingespuit was, dat gevoeligheid vir euglobulien die eerste opgetree het (na 8 à 10 dae) en vir globulien eers baie later (na 16 à 20 dae).

Meldenswaardig is hier ook die proewe van ROSENAU en ANDERSON [3]) wat aantoon dat Guinese biggies multipel oorgevoelig gemaak kan word vir verskillende eiwitsoorte.

Soos ons dus hierbo by die Dale proewe gesien het is desensibilisasie van gladde spierweefsels in vitro ook aantoonbaar. COCA en KOSAKAI [4]) het hiervoor een sekere wetmatigheid vasgestel. Vereers het hulle eweas DALE gevind dat as voldoende antigeen toegevoeg word om 'n maksimale sametrekking van die gladde spier in vitro te gee, verdere toevoeginge, ook van grotere hoeveelhede antigeen dan nie meer sametrekking veroorsaak nie. Is egter deur die eerste toevoeging van antigeen nie al die antiliggame gebind nie, dan luk dit alleen om verdere kontraksies te verwek *deur toevoeging van grotere hoeveelhede antigeen,* totdat dan tenslotte neutralisasie ook weer volkome bereik word. Dat die waarneming van COCA en KOSAKAI juis gewees is bevestig die latere proewe van DALE [5]) en nog later die van WALZER en GROVE [6]) waarvan ons die verdere besonderhede in § 3*b*, vind.

---

1) The Jl. of Pharmacol. and Therap. Vol. 1, 1909, p 549.
2) The Biochem. Jl. Vol X, 1916, p. 408.
3) Jl. of Pharmac. Vol. IV, 1913, p. 17.
4) Jl. of Immunol. Vol. V, 1920, p. 297.
5) JOHNS HOPKINS Hospit. Bull. Vol. XXXI, 1920, p. 310.
6) Jl. of Immunol. Vol. X, 1925, p. 514.

§ 2. Anafilaksie en allergie by Guinese biggies:

Van die baie en uitgebreide ondersoekings oor anafilaksie met dierlike eiwitsoorte by Guinese biggies volg hier alleen 'n oorsig van die belangrikste gegewens van ondersoekers wat vir my latere beskouings van betekenis sal blyk.

Dis bekend dat by verskillende diersoorte verskillende organe spesiaal aangetas word tydens 'n anafilaktiese „shock". Vir Guinese biggies was Auer en Lewis [1]) die eerste gewees wat aangetoon het dat tydens 'n anafilaktiese „shock" vernaamlik longverskijnsels op die voorgrond tree. Hulle beskryf die beeld as volg:

„The picture is dominated by an asphyxiating obstruction of the respiration due to contraction of the plain muscles surrounding the bronchial tubes, which produces a valve-like closure of the lumen, so that air can be sucked into the chest by violent effort, but cannot again be expelled".

Ook ander ondersoekers [2]) na Auer en Lewis het dit waargeneem en bevestig.

Melding verdien dan enkele vorme soos plaaslike en alimentêre anafilaksie. Arthus [3]) is die eerste gewees wat daarop gewys het dat by herhaalde inspuitings van 'n vreemde eiwit in die huid van konyne op 'n gegewe oomblik 'n sieklike verandering in die vorm van nekrose kan ontstaan op die plek van inspuiting. By Guinese biggies tree dit egter nie so gemaklik op nie.

Rosenau en Anderson [4]) is die eerste gewees wat aangetoon het dat Guinese biggies oorgevoelig gemaak kan word deur hulle te voer met vreemde eiwitsoorte van dierlike afkoms. Later het ook Osborne en Wells [5]) aangetoon dat

---

1) Jl. of Americ. Med. Ass. LIII, 1909, p. 458.

2) Biedl en Kraus Wien. Klin. Wochenschr. XXIII, 1910, p. 385. Anderson en Schultz. Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. VII, 1910, p. 32. Schultz en Jordan. Jl. of Pharm. and Exp. Ther. II, 1911, p. 375.

3) Compt. rend. Soc. biolog. 1903, p. 817.

4) Jl. of Med. research. XVI, 1907, p. 414.

5) Jl. of Infect. diseases. VIII, 1911, p. 77.

Guinese biggies spesifiek oorgevoelig gemaak kan word deur hulle te voer met koeimelk, beesbloed en albumien-van-eiers. Tewens wys dieselfde ondersoekers ook daarop dat Guinese biggies wat met graansoorte gevoer word daarvoor oorgevoelig word en deur langdurige voeding weer ongevoelig.

Wat ook van belang is vir alimentêre anafilaksie is soos SHIN MAIE [1]) aangetoon het dat Guinese biggies anafilakties gemaak kan word deur vreemde eiwitsoorte per os toe te dien. Nadat hy die Guinese biggies 'n dag honger laat ly het, het hy bevoorbeeld by elkeen van hulle 4 cm^3 albumien-van-eiers of perdeserum met 'n sagte dunne gummiebuis no. 11 direk in die maag gebring. Al die diere het deur intraweneuse inspuitings van die spesifieke antigene na inkubasie-tye van ± 14 dae doodgegaan in 'n anafilaktiese „shock". Bowendien was ook die komplement-bindings en presipitine reaksies veral by jong Guinese biggies positief.

Nog 'n rigting van ondersoekings wat melding verdien is die oor passiewe immuniteit bij kleintjies van moeder diere wat aktief immuun gemaak is vir sekere stowwe. In 1892 het EHRLICH [2]) aangetoon dat kleintjies van wyfie muise wat aktief immuun gemaak is met abrin, ricin, robrin, ook vir hierdie stowwe ongevoelig geblyk het. Die immuniteit het egter nooit langer geduur as twee, hoogstens drie maande nie. Verder het geblyk dat laktasie 'n groot rol gespeel het by die oorbring van die immunisasie. Geimmuniseerde mannetjie muise het nie invloed gehad op die kleintjies nie. Later het EHRLICH en HUBENER [3]) die ondersoekings uitgebrei en dieselfde resultate gekry by kleintjies van moeder muise en Guinese biggies wat vir tetanus immuun gemaak was. In 1895 het WERNICKE [4]) dit aangetoon vir difterie by Guinese biggies en in 1896 VAILLARD [5]) vir tetanus en kolera. Nog ander

---

1) Biochem. Zeitschr. Bd. 132. 1922, p. 313.
2) Zeitschr. f. Hygiene XII, 1892, p. 183.
3) Zeitschr. f. Hygiene XVIII, 1894, p. 51.
4) Festschr. z. 100 jähr. Stiftungsfeier d. Friedrich Wilhelm Inst 1895, Bls. 525.
5) Annal de l'instit. Pasteur. 1896, p. 65.

ondersoekers hieroor wat ook dieselfde resultate gekry het as EHRLICH was DIEUDONNÉ [1]) in 1899, THEOBALD SMITH [2]) in 1905 en ANDERSON [3]) in 1906.

In die literatuur kry 'n mens maar min ondersoekings oor anafilaksie by Guinese biggies met eitwitoplossings van graansoorte. Die belangrikste en tewens die enigste ondersoekings was die van OSBORNE en WELLS. [4]) Hulle is dit geluk vir verskillende graansoorte die spesiwisiteit aan te toon by oorgevoelig gemaakte Guinese biggies. Bowendien leer hulle eksperimente dat die graansoorte onderling verskillende verwante groepe bevat, maar ook nog sekere werksame groepe, wat aanspreeklik gestel moet word vir die reaksies van die afsonderlike graansoorte. Hulle het die onderlinge verwantskap en verskilpunte ondersoek van hordein [5]) van gars, glutenin [6]) van tarwe en gliadin [7]) van rogge en tarwe. Hulle kon o.a. aantoon dat Guinese biggies oorgevoelig gemaak vir gliadin van tarwe, sterk reageer deur inspuiting met hordein van gars, en omgekeer, maar dat dan nog altyd reaksie optree deur inspuiting met die oplossing waarmee die Guinese biggies oorgevoelig gemaak was. Een en dieselfde verhouding het hulle gevind tussen gliadin en glutenin. Die reaksies met die aanverwante stof was dan egter nie so sterk as met die spesifieke antigeen nie. OSBORNE en WELLS verklaar die waarnemings as volg:

„When Guinea-pigs were sensitized with one of these proteins (gliadin or hordein) and then saturated with the other, it was found that the saturated animals were still sensitive to the protein with which they were originally sensitized. Since this result was obtained in every one of 24 experiments, any element of accident is excluded. We

---

1) Ann. de l'instit. Pasteur. 1899, p. 129.
2) Jl. Med. Research XIII, 1905. p. 341.
3) Publ. Health and Marine Hosp. Serv. Bull. No. 30, 1906.
4) Jl. of Infect. Diseases Vol. XII, 1913, p. 351.
5) Hordein — oplosbare proteïne van gars in 70 % alkohol.
6) glutenin — oplosbare proteïne van tarwe in 70 % alkohol.
7) gliadin — oplosbare proteïne van rogge en tarwe in 70 % alkohol.

must consequently conclude that gliadin and hordein contain both common and specific antigens".

Die spesiwisiteit word volgens die skrywers beheers deur enkele groepe van die hele molekuul, maar watter groepe dit is, moet dan nog uitgemaak word. Na die enkele gegewens is dit duidelik dat die leer van die anafilaksie vernaamlik gedien het as steun om 'n betere insig te kry oor die werksame stowwe van pollen as verwekkers van hooikoors.

§ 3. Oor die pollenallergie.

a. *Pollenallergie oor die algemeen.*

Reeds in 1873 het Blackley [1]) aangetoon dat hooikoors verwek word deur die binnedring van stuifmeel korrels in die oogbindvliessakke en die bowenste lugweë Dat daar nie meer twyfel oor bestaan nie, het al die ondersoekers na die tyd voldoende kon bevestig. Ons kennis egter oor die meganisme van die siekteproses het nog nie so'n groot vooruitgang gemaak nie.

Behalwe die enkele ondersoekers [2]) in Nederland, is die meeste ondersoekings hieroor gedoen in die buiteland, en veral in Amerika. Die voortreflike uiteensetting van Benjamins [3]) vir die doelmatigste indeling van die oorgevoeligheidssiektes, leer ons, dat dit nog nie heeltemal seker is of hooikoors beskou moet word as 'n vorm van anafilaksie nie, deurdat verskillende argumente ook daarteen pleit. Nadat Wolf. Eisner [4]) in 1906 die mening uitgespreek het, dat hooikoors as 'n anafilaktiese toestand opgevat moes

---

1) Experim. Researches on Causes and nature of Hay fever. 1873.

2) Benjamins, Idzerda en Uittien. Nederl. Tijdschr. v. Gen. 1923, 330.
„ „ „ „ „ „ I. 1924, 2838.
„ „ „ „ „ „ I. 1926, 935.
„ „ „ „ „ „ II. 1926, 18.
Benjamins, Idzerda en Nienhuis „ I. 1929, 143.

3) Wolters, Groningen. 16, 1924.

4) Das Heufieder, München, 1906.

word, het enkele ondersoekers dan ook probeer Guinese biggies aktief oorgevoelig te maak vir pollens.

DUNBAR [1]) is die eerste gewees wat in 1911 die gedagtegang gesteun het deur sy meedeling dat dit hom geluk het om uit 'n reeks van 21 Guinese biggies 14 aktief oorgevoelig te maak vir roggepollen. COOKE FLOOD en COCA [2]) daarenteen het in 1917 weer meegedeel, dat dit hulle heeltemal nie geluk het om Guinese biggies oorgevoelig te maak nie, vir pollens van agrostis vulgaris en ambrosia trifida. Bowendien het dit hulle ook steeds misluk om die aanwesigheid van presipitine of antiliggame aan te toon. ALEXANDER[3]) het in 1923 die proewe van DUNBAR herhaal en al die Guinese biggies wat hy ingespuit het met roggepollenekstrak, het oorgevoelig geword. Sommige diere het slegs één intraperitoneale injeksie van 1 cm^3 roggepollenekstrak ontvang. Die Guinese biggies, wat hy na inkubasie tye van 14 dae, 1 tot 2 cm^3 roggepollenekstrak intraweneus ingespuit het, het almal binne enkele minute doodgegaan in 'n anafilaktiese "shock". Hy kon aktief oorgevoelige Guinese biggies vir roggepollen desensibiliseer deur eers 'n kleine hoeveelheid roggepollenekstrak (b.v. 0,3 cm^3) intraweneus in te spuit, waarop die diere reageer het met benoudhede en krampe, om dan weer te herstel. Verdere intraweneuse inspuitinge van 1—2 cm^3 roggepollenekstrak het dan nie "shock" veroorsaak nie. Die spesiwisiteit van roggepollen-oorgevoelige diere het geblyk, deurdat intraweneuse inspuiting, van mieliepollenekstrak nie verskynsels verwek het nie. Ook het 'n Guinese biggie wat passief oorgevoelig gemaak was met serum van 'n aktief oorgevoelige Guinese biggie vir roggepollen, doodgegaan in "shock" na 'n intraweneuse inspuiting van roggepollenekstrak.

Dis ALEXANDER egter ook nie geluk om presipitine in die sera van roggepollen-oorgevoelige Guinese biggies aan te

---

[1]) Deutsche Med. Wochenschr. 37, 1911, 578, 580.
[2]) Jl. of Immun. 2, 1917, 217.
[3]) Jl. of Immun. 8, 1923, 457.

toon nie. WALZER en GROVE [1]) verklaar die gemaklikheid waarmee Guinese biggies oorgevoelig gemaak kan word met roggepollen as volg:

„The mere facility with which hypersensitiveness was induced with rye-pollen, separates it at once from the class of pollens of the timothy — and ragweed groups, where with practically the same technic in other hands, no evidences of anaphylaxis were obtainable. Rye pollen in comparison with the members of the timothy and ragweed groups, is rather heavy, and it seemed conceivable that it might contain active substances, which are not present in the lighter pollens, and which were responsible for the easy induction of anaphylaxis in Dunbar's and Alexander's series".

Met betrekking tot hierdie uitspraak van WALZER en GROVE word hier alleen vermeld dat uit my proewe geblyk het, dat in roggepollenekstrak 'n histaminagtige stof aanwesig is. Vir die verdere besonderhede hieroor, as ook enkele gegewens uit die literatuur oor die werking van histamine op die uterusspiere van sommige diersoorte, word verwys na hoofdstuk III. § 5.

In 1926 het SUSAN GRIFFITH RAMSDELL [2]) verklaar dat dit haar geluk het om die antigene werking van pollens aan te toon by Guinese biggies en konyne, voorbehandel met artemisia Californica, artemisia tridentata en ambrosia pollens.

Dit het egter geblyk dat die anafilaksie, komplementbindings- en presipitine-reaksies, nie heeltemal spesifiek was nie. So het bevoorbeeld 'n Guinese biggie, oorgevoelig gemaak vir Artemisia californica, dood gegaan in anafilaktiese „shock" deur 'n intraweneuse inspuiting van Artemisia tridentata. Eweneens het sy positiewe presipitine- en komplementbindings-reaksies gekry met Artemisia tridentata en sera van diere oorgevoelig gemaak vir Artemisia californica. Opvallend is daarenteen haar meedeling dat sy positiewe en spesifieke huidreaksies waargeneem het by Guinese big-

---

1) Journl. of Immun. 1925, X, 484.

2) Journl. of Immun. 1926, XII, 231.

gies wat vir Artemisia californica en Artemisia tridentata oorgevoelig gemaak was. Die bewering van ULRICH [1]) dat dit hom geluk het om Guinese biggies oorgevoelig te maak deur inblasings van pollens in die neusgate, het, veral nadat SMITH [2]) net die teenoorgestelde bewijs het, nie verder die aandag van ondersoekers gevra nie. Ek wil nou eers met 'n enkel woord melding maak wat oor die aard van die werksame stof bekend is. Die gedagtegang tot vir 5 jaar gelede was dat 'n mens gemeen het met 'n eiwitoorgevoeligheid te doen te hê, terwyl skeikundig ook uitgemaak was dat die vernaamste inhoud van stuifmeelkorrels eiwitstowwe is, en al die ondersoekers ook duidelike reaksies gemeen het te kon aantoon vir die eiwitstowwe van pollens.

Vir roggestuifmeel kry ons as voorbeeld opgegee, dat dit behalwe water, nog die volgende bestanddele bevat:

eiwit	40 %
vet	3 %
koolhidraat	25 %
asbestanddele	3.4 %

Dat dit die eiwitstowwe in die pollens is wat beskou moet word as die verwekkers van hooikoors, is egter deur enkele ondersoekers teëgespreek. In 1925 het GROVE en COCA [3]) naamlik die verbasende meedeling gedoen dat dit nie die eiwitstowwe is wat die reaksies verwek nie.

Hulle het dit toevallig ontdek, deur hulle ondersoekings om die oorsaak te vind vir die verlies in werksaamheid van verskillende pollenekstrakte. Deurdat hulle ook uitgegaan het van die idee dat die werksame stowwe in die pollens proteïne is, het hulle die agteruitgang in werksaamheid toegeskryf aan outodigestie deur aanwesige proteolietiese fermente.

Nieteenstaande volkome verwydering van die proteïne uit die pollenekstrakte deur te digereer met trypsine en dialiese, het die ekstrakte nie verminder in werksaamheid

[1]) Jourl. of Immun. 1918, 3, 453.
[2]) Journ. of Immun. 1918, 3, 325.
[3]) Journ. of Immun. 1925, X, 476.

nie, soos aantoonbaar was met huidreaksies by hooikoorslyers. Die proewe van WALZER en GROVE [1]) oor enkele graspollens volgens die Dale metode en waaroor ek later meer sal skryf, het ook die uitspraak van COCA en GROVE bevestig. Op die uitspraak van GROVE en haar medewerkers het egter al gou weer kritiek gevolg.

Die proewe van CAULFIELD COHEN en EADIE [2]) oor verskillende pollenfraksies volgens die Dale metode verdien hier alleen melding omdat hulle die eerste was wat ander resultate bereik het. Hulle proewe word later ook breedvoeriger bespreek

CAULFIELD COHEN en EADIE het slegs by twee Guinese biggies, voorbehandel met Ambrosiapollen, die uterusspiere in vitro ondersoek op gedigereerde en gedialiseerde albumienproteose en proteose-fraksies van Ambrosiapollen, en daarop het die spiere heeltemal nie reageer nie, of baie min, terwyl die volle Ambrosiapollenekstrak duidelike reaksies veroorsaak het. Hierdie uitspraak was dus in teëspraak met die van WALZER en GROVE. Dis egter hoofsaaklik die ondersoekings van FARMER LOEB [3]) wat net die teenoorgestelde gelewer het as die van COCA en GROVE en van WALZER en GROVE. Die resultate van FARMER LOEB se proewe het aangetoon dat dit juis die eiwitte in die pollens is wat die reaksies veroorsaak. Hy wys dan ook daarop dat die Amerikaanse ondersoekers die pollenekstrakte te kort blootgestel het (4—7 dae) aan die inwerking van „trypsine" ferment om die eiwit bestanddele te verwyder uit die ekstrakte. Verder wys hy daarop dat die metode van N-bepaling volgens Kjeldahl, deur die Amerikaanse ondersoekers gebruik, slegs noukeurig tot 0,01 mgr. N-stof per cm^3 aangee en dat deur 'n noukeuriger metode (halbmikro-Kjeldahl-metode) die onteiwitte ekstrakte nog wel aantoonbare N-stof sou bevat het en as oorsaak van die positiewe reaksies beskou moes word, daar selfs baie sterk verdunde

1) Journl. of Immun. 1925, X, 517.
2) Journl. of Immun. 1926, XII, 161.
3) Klin. Wochenschr. 8. Jahrg. 1929, 5, 926.

eiwitoplossings nog duidelike positiewe reaksies veroorsaak het.

Farmer Loeb het ondersoekings gedoen met Alopecurus en Dactylis graspollens. Die manier waarop hy die ekstrakte behandel het, meld ek hier woordeliks:

„Zur Herstellung der Extrakte wurden je 0,3 gr Pollen (mit Aether entfettet) mit je 10 ccm. 1 proz. CO_2-freier NaCl-Lösung 3 Stunden geschüttelt („Gesamtextrakt"). Diese Lösung wurde filtriert und darauf 10 minuten mit 96 proz. Alkohol im Verhältnis von 1 : 4 versetzt. Der entstehende Niederschlag wurde abzentrifugiert und in 7,5 ccm. 1 proz. CO_2-freier NaCl-Lösung aufgeschwemmt („Alkoholfällung"). Ein anderer Teil der Lösung wurde mit absoluten Alkohol versetzt, 24 Stunden stehen-gelassen, der Niederschlag abzentrifugiert und die überstehende Flüssigkeit („Alkoholfiltrat") nach Einengung zur Prüfung benutzt.

Wir unterwarfen den „Gesamtextrakt" und die „Alkoholfällung" ebenfalls der tryptischen Verdauung. Es wurden hierzu je 10 ccm. des Pollenextraktes bzw. 10 ccm. der aufgeschwemmten Alkoholfällung, 2 mal in Abständen von je 2 Tagen mit je 2 ccm. eines Pankreasglycerinextraktes (hergestellt nach Willstätter und Waldschmidt—Leitz) versetzt und das Gemisch unter Zugabe von Toluol in einer Collodiumhülle 12 Tage gegen destilliertes H_2O dialysiert. Die Verdauung und Dialyse wurde im Eisschrank, unter täglicher Erneuerung der Aussenflüssigkeit,[1]) ausgeführt. Die Lösungen wurden dann im Faust-Heinschen Apparat auf das ursprüngliche Volumen eingeengt".

Die huidreaksies by hooikoorslyers was duidelik positief vir die „Gesamtextrakt" en die „Alkoholfällung", terwyl dit heeltemal negatief was vir die gedigereerde en gedialiseerde „Gesamtextrakt" en „Alkoholfällung". Die konklusie van die ondersoekers was dan ook as volg: „Es geht hieraus hervor, dass das wirksame Prinzip des Pollenextraktes ein Eiweiszkörper ist oder an einen Eiweiszkörper fest gebunden oder

[1]) Dus die ultrafiltraat het hulle verwyder en nie ondersoekings meegedoen nie.

nur in Verbindung mit einem Eiweiszkörper wirksam ist".

Die meedeling van FARMER LOEB is dan ook belangrik, omdat dit aanleiding gee vir verder ondersoek op die gebied.

b. Pollenallergie en die proef van Dale.

Vervolgens 'n oorsig van die ondersoekings wat tot sover verrig is met pollens volgens die Dale metode. Soos reeds in die inleiding vermeld is, kry 'n mens maar baie weinig hieroor in die literatuur.

JULIA PARKER [1]) skyn die eerste te gewees het wat van die Dale metode gebruik gemaak het om die antigene werking van pollen te ondersoek. Sy het egter alleen Ambrosiapollen gebruik vir die proewe en die uterusspiere in vitro van al die ingespuite Guinese biggies het spesifiek reageer op die pollen. Om egter antiliggame te kan verwek vir pollen stel sy die voorwaarde dat baie groot hoeveelhede in totaal (36—70 cm^3) ingespuit moet word by iedere Guinese biggie. Sy het naamlik van die veronderstelling uitgegaan, dat pollens baie weinig proteïne bevat en dat dus alleen deur inspuiting van groot hoeveelhede, positiewe resultate bereik kan word.

Die vernaamste ondersoekings wat tot dusver verrig is met pollens volgens die Dale metode is die gewees van WALZER en GROVE [2]). Hulle het egter om reeds genoemde rede alleen met Phleum pratense en Ambrosiapollens gewerk sodat 'n insig oor die spesiwisiteit of nie-spesiwisiteit van die verskillende graspollens, uit hulle proewe nog nie blyk nie.

Hulle proewe het egter vir my die rigting aangegee vir verdere ondersoek hieroor.

Uit die volgende woordelike meedeling van WALZER en GROVE blyk dat hulle, eweas die ander ondersoekers, ook die beswaar ondervind het, dat Guinese biggies oor 'n sekere gewig nie geskik was vir dergelike proewe nie.

„One of the most disturbing difficulties in this work has

---

1) Proc. Soc. Exp. Biol. and. Med. 1921, 18, 237.

2) Journl. of Immun. Vol. X, 1925, 517.

been the fact that on account of the considerable period of time occupied by the intervals between the injections and the subsequent incubation period of at least two weeks the animals were often found to be in heat [1]) at the time they were to be tested, so that the uterus could not be used. Of 115 animals in the experiments with pollen extracts and Le Page's glue about 50 were unavailable for this reason".

Gevolglik het hulle hoofsaaklik Guinese biggies onder 300 g. in gewig gebruik vir hulle proewe. Volgens hulle eksperimente is aan die spesifieke antigene werking van Phleum pratense en Ambrosiapollens met die Dale en „shock" metode nie te twyfel nie. Dit het geblyk dat volgens die Dale metode 'n baie groter aantal positiewe resultate verkry was as met intraweneuse inspuitings van die spesifieke antigene, sowel by Guinese biggies oorgevoelig gemaak vir albumien-van-eiers, as by die wat vir die pollens oorgevoelig gemaak was. Die aantal Guinese biggies wat vir pollens oorgevoelig geword het is egter baie kleiner as die wat vir albumien-van-eiers oorgevoelig geword het. So het bevoorbeeld uit een getal van 37 Guinese biggies in die pollenreekse slegs 5 teenoor 19 uit 'n getal van 53 in die albumien-van-eiersreekse in 'n anafilaktiese „shock" doodgegaan, na intraweneuse inspuitings van die spesifieke antigene.

Daarenteen het volgens die Dale metode in die pollenreekse 31 uit 'n getal van 61 en 31 van 44 Guinese biggies in die albumien-van-eiersreekse, die uterusspiere in vitro duidelike reaksies vertoon by aanraking met die spesifieke antigene. Hieruit volg dan ook duidelik dat die proewe volgens DALE 'n gevoeliger metode is om antiliggame te kan aantoon. Verder meld die skrywers dat die enkele diere in die pollenreekse geheel en al ooreenkomstige verskynsels vertoon het, vernaamlik longverskynsels, as die diere in die albumien-van-eiersreekse, wat doodgegaan het in 'n anafilaktiese „shock".

[1]) Tydens die brons-periode maak die uterusspiere so sterke skommelinge, dat dit vir die soort proewe onbruikbaar is.

Volgens hierdie skrywers is die belangrikste verskilpunt tussen oorgevoelig gemaakte Guinese biggies vir pollens, en die wat vir dierlike eiwit antigene oorgevoelig gemaak is, dat normale Guinese biggies nie passief oorgevoelig gemaak kan word nie met sera van oorgevoelige Guinese biggies vir pollens.

Dit het hulle ook nooit geluk om presipitine in die bloed sera van Guinese biggies wat vir pollens oorgevoelig gemaak is aan te toon nie. Verder het hulle gevind dat desensibilisasie van antiliggame veral met die oorgevoelige uterusspiere in vitro nie optree volgens die vasgestelde wetmatigheid van COCA en KOSAKAI nie, deurdat herhaalde toevoegings van ewe grote doses spesifieke pollen antigeen steeds nog kontraksies veroorsaak en eers baie later neutralisasie optree. Bowendien het hulle gemerk dat die uterusspiere in vitro van Guinese biggies wat doodgegaan het in 'n anafilaktiese „shock" nie ongevoelig geword het vir die spesifieke pollen antigene nie, soos in die gevalle met dierlike-eiwit-oorgevoelige uteri.

Ook het hulle gevind dat die latente periodes van pollen-oorgevoelige-uteri in vitro langer is as vir dierlike-eiwit-oorgevoelige-uteri. Hulle het die latente periodes egter nie gemeet nie. WALZER en GROVE was ook die eerste wat volgens die Dale metode 'n vergelykende ondersoek gedoen het oor die antigene werking, by Guinese biggies, van volledige- en proteïnevrye-pollenekstrakte, waarvan die laasgenoemde volgens COCA en GROVE (l. c.) nie agteruit gegaan het in werksaamheid nie. Ook hulle het die waarnemings van COCA en GROVE bevestig, deurdat die Guinese biggies vir beide ekstrakte oorgevoelig gemaak kon word. Tussen die proteïnevryeekstrakte van die naverwante pollens van Ambrosia trifida en Ambrosia artemisiaefolia was egter geen verskil te sien in die reaksies van Ambrosiapollen-oorgevoelige-uteri nie. Ook kon hulle volgens die metode aantoon dat naas die antigene werking van die proteïnevrye stowwe in Ambrosiapollenekstrakte, ook nog bykomstige stowwe aanwesig is wat as antigene werk.

Aangesien die stowwe egter volkome kan verwyder word uit die ekstrakte met trypsinfermentwerking en dialiese, is dit nie onwaarskynlik nie, dat die stowwe eiwitte is. Bowendien het uit hulle proewe geblyk dat die waarskynlike eiwitstowwe van minder belang is, deurdat hulle antigene werking baie swakker is as van die proteïn-vrye stowwe in Ambrosiapollen.

Susan Griffith Ramsdell [1]) het ook volgens die Dale metode enkele ondersoekings gedoen met Artemisia- en Ambrosia-pollens. Sy het ook die beswaar ondervind dat Guinese biggies van 'n sekere gewig ongeskik geblyk het vir die proewe. Haar enigste en vir my die belangrikste meedeling is dat sy gemerk het dat uterusspiere in vitro, van nie-voorbehandelde diere, ook sterke reaksies vertoon het op Artemisia- en Ambrosia-pollenekstrakte. Die stimulerende dosis was 0,5 tot 1 cm^3 van 1 : 20 pollenekstrak (50000 E.).

Tenslotte dan nog enkele gegewens oor die proewe van Caulfield Cohen en Eadie (l.c.).

Hulle het volgens die Dale metode ondersoekings gedoen met verskillende pollenfraksies van Ambrosia- en Phleum pratense-pollens. Vir die fraksies wat hulle mee gewerk het, naamlik albumien-proteose [2]), proteose [3]) en glutenin [4]) kon hulle duidelike spesifieke reaksies aantoon. Melding verdien dan nog dat hulle, sover ek die literatuur nagegaan het, die enigste ondersoekers was wat kalkvrye Ringer oplossing vir uterusspiere „in heat" gebruik het, en tog nog duidelike positiewe reaksies gesien het.

---

1) Journal of Immun. 1926, XII, 235.

2) Albumien = proteose-neerslag met alkohol 95 % van 'n pollenoplossing in gedistileerde water.

3) Proteose = neerslag met alkohol 95 % van 'n filtraat van 'n waterige-pollenoplossing wat eers van te vore gekook het na toevoeging van 'n paar druppels asynsuur.

4) Glutenin = oplosbare fraksie in 'n 0.144 % NaOH-oplossing.

HOOFSTUK II.

EIE ONDERSOEK.

I. Metodiek.

Vir die uitvoering van my proewe is gebruik gemaak van 'n elektriese termostaat 37° C. Deur middel van die

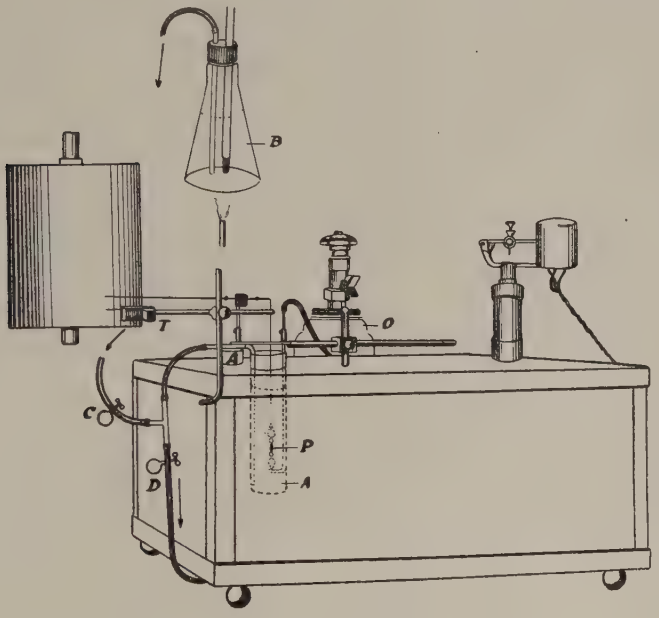

Fig. 1. Elektriese termostaat 37° C.

bygaande skema (fig. 1) is die opbou en werking van die toestel duidelik te volg. B. is 'n groot kolf van Erlenmeyer

met 'n kurk en voorsien van 'n termometer en 'n dunne glasbuis. Die kolf waarin Ringer-vloeistof verhit kan word staan op 'n hoër vlak as die toestel, sodat gemaklik hewelwerking, deur verbinding met 'n gummiebuis, na die toestel verkry kan word. Die vloeistof in die kolf word verhit tot 40° C. en op die temperatuur gehou.

A. is 'n silinderglas in die waterbad. Hierin word geplaas en bevestig soos in die skema te sien is, 'n dunne regte glasbuis wat bo oop is, en in verbinding staan, deur 'n gummiebuis, met 'n suurstofsilinder (O).

Die glasbuis is onderaan reghoekig omgebuig en die uiteinde hiervan is ook weer wat omgebuig en kan sodoende houvas bied aan 'n draadlussie waaraan 'n klein klemmetjie vas sit wat dien om die spier (P) te bevestig. Die glasbuis is onderaan ook oop om suurstof deur te kan laat. Deur 'n ander klemmetjie wat in verbinding staan met 'n hefboom kan die spier (P) ook gepak word sodat die kontraksies kiemografies geregistreer kan word. Voor en agter die draaipunt van die hefboom is 'n ronde moertjie sodat deur verplasing van die voorste moer die kontragewig op die manier verswaar kan word.

'n Merk is bo in die silinderglas gemaak om aan te toon wanneer die inhoud 100 cm^3 bereik. Deur hewelwerking kan die inhoud verwyder word. Inlas van 'n T-vormige glasbuis tussen die klemme C en D maak dit moontlik dat die inhoud van die silinderglas A. willekeurig ververs kan word.

Die termostaat bevat 2 silinderglase A en A′ en stel sodoende in staat om gelyktydig twee proewe te kan verrig. In die meeste gevalle is gebruik gemaak van vloeistof van Dale-Ringer waarvan die samenstelling as volg is:

Na Cl	9.0
KCl	0.42
$CaCl_2$	0.12
Dextrose	1.0
$NaHCO_3$	0.5
Aqua Dest.	1000.

Die rede waarom DALE die Ca-konsentrasie verander het as ook die gevalle waar, in die samenstelling van die vloeistof van DALE verandering gemaak is, word later bespreek.

Die toevoeging van antigene in die bade het plaas gevind met gegradueerde steriele pipette (0,5 — 1 cm^3 per keer).

Die versameling en bewaring van die pollen het geskied op die gewone wyse; verdere besonderhede hieroor vind ons in 'n artiekel van BENJAMINS [1]) oor hooikoorsverwekkende stowwe ens.

Die buffer-vloeistof van COCA [2]) is gebruik om die werksame stowwe op te los en die samenstelling daarvan is as volg:

NaCl. pur	2.50
$NaHCO_3$ pur	1.25
Phenol	2.0
Aq. dest. steril. . . .	500.

Vir die voor- en nadele van die verskillende ekstraksievloeistowwe, as ook die onjuistheid van die N-stof bepaling van die pollenekstrakte om die sterkte van die ekstrakte af te meet, word verwys na die uiteensetting van BENJAMINS. [3])

Die hoeveelheid werksame stowwe in navolging van NOON [4]) word uitgedruk in E (eenhede), en berus hierop dat E = 0,001 mgr. pollen, wat gevolglik beteken dat bevoorbeeld 'n 3% pollenekstrak 30,000 E. per cm^3 afstaan. Die pollen word van te vore met aether ontvet in 'n Soxhlet-apparaat, en hiervan 'n 3% oplossing gemaak en gedurende 3 dae geskud in 'n elektriese skudmasjien op kamertemperatuur. Vervolgens steriel gefiltreer of na 'n tyd lang staan gedekanteer en daarna bewaar in 'n yskas.

Vervolgens word die P_H van die volgende vloeistowwe meegedeel: —

---

1) Nederl. Tijdschr. v. Geneesk. 1923, 67, 1, 333.
2) Jl. of Immun. Vol. VII, 1922, 163.
3) Nederl. tijdschr. v. Geneesk. 1926, 70, 1, 936.
4) The Lancet. 1911, blz. 1572.

Dale Ringer 7.6
kalkvrye Ringer 7.6
kalkvrye Ringer (Dale) plus 0.06 $CaCl_2$ per liter 7.5

7.5 kalkvrye Ringer
7.45 Dale Ringer
7.4 kalkvrye Ringer plus 0.006 $Cacl_2$

} waaraan toegevoeg is 0.5 cm^3 ekstraksievloeistof van Coca per 100 cm^3.

Die P_H is kolorimetries bepaal met m-Nitrophenol as indikator en die noukeurigheid daarvan gaan tot ongeveer 1 eenheid in die 1e desimaal.

Hierdie bepalings gee geen indruk van die werklikheid by die proewe nie, daar tydens die proewe, by die deurlaat van O_2, die H-ione konsentrasie telkens gewysig word, wat verder nie bepaal is nie.

Die wyse van voorbehandeling van die diere het daarin bestaan dat hulle meerdere en meestal 3 intraperitoneale inspuitings gekry het, waarby die nodige voorsorg vir a- en anti-sepsis geneem was. Die inspuitings het plaasgevind deur die dier vas te hou, gestrek met die kop naar onder toe, en dan so hoog moontlik en op sy, in die buik te spuit, sodat weinig kans bestaan het om in die derms te steek. Na die eerste inspuiting het die ander inspuitings gevolg met 5 en 7 dae tussenpose resp. en meestal is 1.5 tot 2 cm^3 antigeen per keer ingespuit. Vir die inkubasie periode is tenminste 14 dae en langer gewag.

Die Guinese biggies het in die begin in hooi gesit en van alles gevreet soos brood, hawer en koolrape ens; maar later is dit verander deurdat die voedingskwessie van die diere 'n belangrike rol gespeel het in die proewe. Dit sal later egter breedvoerig beskryf word. In die reël was die proefdiere gedood met 'n nekslag en daarna die uterushoorns verwyder en geplaas in die vloeistof van Dale soos aangegee in die skema. Vir sommige proewe was narkose nodig en opvallend was dat die diere deur kloroformnarkose spoedig dood gegaan het, terwyl hulle „aether" narkose goed verdra het.

a. *Die proef van Dale met vooroefening serumdiere.*

Om eers tuis te raak in die metodiek is begin om 'n reeks van Guinese biggies voor te behandel met normale serum van 'n perd. In aanmerking geneem die feit, soos deur vroeër ondersoekers bekend gemaak, dat Guinese biggies oor die 300 g. vir 'n groot persentasie vir dergelike proewe ongeskik geblyk het — die uterusspiere in vitro sogenaamd „in heat" was en ook met die oog op die snelle groei en toeneming in gewig, gedurende die tyd wat nodig is vir die inspuitings en inkubasie periode, is begin met Guinese biggies so jonk moontlik in te spuit. Elke dier het 3 intraperitoneale inspuitings ieder van 0,5 cm^3 perdeserum gekry en met tussenpose soos hierbo vermeld is, en 'n inkubasie periode van minstens 14 dae afgewag. Die Guinese biggies het vir die beginproewe egter almal 'n gewig oor die 300 g. bereik. Die gevolg was dan ook dat die uterusspiere op Dale-Ringer onrustig was en die later te beskrywe metodes om onrustige spiere te kalmeer, toegepas moes word. Bowendien was ook nog met reekse serumdiere gewerk om allerlei invloede te bestudeer, soos kastrasie en bestraling van die ovaria, op die aktiwiteit van die uterusspiere ens. Vir die resultate van hierdie proewe as ook van die beginproewe word verwys na hoofstuk III.

b. *Besware.*

Die grootste beswaar van die Dale metode, soos ook uit my eerste proefnemings geblyk het, is die gewig van die diere waardeur die meeste van die diere ongeskik was vir die proewe op Dale-Ringer. Dit was dan ook duidelik dat as op die gewone manier met die proewe deurgegaan moes word, ek 'n baie groot aantal Guinese biggies tot my beskikking moes hê. Prakties was dit nie moontlik nie omdat die stal maar klein is en ek van eie kweek afhankelik was en sodoende van tyd tot tyd slegs oor 'n klein aantal diere beskik kon word. Die proewe is met so 'n geringe materiaal baie tydrowend daar tog vir 'n uitgebreide ondersoek 'n

groot aantal proefdiere nodig is, en waar dit vir my onmoontlik was moes op andere maniere probeer word om uit elke proefdier sover moontlik die volle waarde te haal. Die metodes wat daarvoor gebruik was by die verdere reekse van proefdiere word in die volgende paragraaf meegedeel.

Opvallend was al direk by die eerste proewe en ook by die verdere proefnemings dat die uterushoorns van die Guinese biggies baie keer ongelyk reageer het, wat dan ook die beswaar opgelewer het dat ewentuele vergelykende reaksies met die hoorns nie betroubaar was nie. Soms was één hoorn rustig, terwyl die ander „in heat" was en kalmeer moes word volgens die benede genoemde metodes. Dat die oorsaak van verskil in aktiwiteit en prikkelbaarheid tussen hoorns van een en dieselfde dier miskien te wyte was aan b.v. ongelykmatige verwarming van die voorste en agterste bad was natuurlik in die begin al aanleiding om in hierdie gevalle die hoorns om te ruil, sonder dat dit egter verskil gemaak het, en inderdaad 'n verskil soms in prikkelbaarheid tussen die hoorns bestaan het. Aan die bade het dit dus nie gelê nie, sodat verder altyd die linker hoorn in bad A en die regter in bad A′ geplaas was. Vir gemakshalwe word voortaan van die linker hoorn dan gespreek as Hoorn I en die regter as Hoorn II. Meestal was Hoorn II die geskikste vir die proewe en die gevoeligste vir die spesifieke reaksies.

2. Opheffing van te grote uteruskontraksies.

Uterusspiere in vitro van Guinese biggies onder 300 g. in gewig is soos ons gesien het vir die Dale proewe die geskikste, waardeur die aantal ongeskikte proefdiere sterk beperk word. Vir oorgevoeligheidsproewe met vreemde dierlike eiwitsoorte is die diere ook so te kies en voor te behandel dat hulle teen die tyd wat hulle geskik is vir die proewe nie swaarder weeg as 300 g. nie, want 'n geringe hoeveelheid, selfs één inspuiting van 'n vreemde dierlike

eiwitsoort is voldoende om 'n Guinese biggie oorgevoelig te maak vir die bepaalde antigeen. Die ervaring het egter geleer dat voorbehandeling met pollenekstrakte baie meer tyd eis daar herhaaldelike inspuitings gegee moet word om oorgevoeligheid op te wek. Tewens moet baie groter hoeveelhede van die ekstrakte per keer ingespuit word. Die eerste inspuitings moet dan ook by so jonk moontlike Guinese biggies (± 5 week oud) gegee word, en dis die weg wat deur die meeste ondersoekers gevolg was. By 'n deel van die proewe, waarby 'n bepaalde diëet geruime tyd gevolg moes word, moes die diere wel oor die beste gewig heen gegroei het. Daarom was dit noodsaaklik om 'n metode te vind wat die onrustige uterushoorns kalmeer. In die literatuur is maar baie weinig steun te vind hoe om te groot uterus-kontraksies op te hef by die Dale proewe.

Vervolgens word dan 'n oorsig gegee van die metodes wat deur my gebruik van gemaak is.

a. *Deur die kontragewig te verswaar.*

By die beskrywing van die metodiek is reeds gemeld hoe dit gebeur. In navolging van DALE [1]) het ek dit ook probeer, maar het daar egter nie baat by gevind nie. Wel is waar het die uitslae van die hefboom iets kleiner geword, maar die prikkelbaarheid van die spiere het nie verander nie. Bowendien kan die kontragewig nie te veel verswaar word nie, want dan bestaan die kans dat die spiere oorspan word en gevolglik onbruikbaar vir verdere proefnemings. Ook het geblyk dat uterusspiere „in heat" weinig reageer op stimulerende stowwe, en hoewel deur die kontragewig die spier iets meer gespan word, is dit waarskynlik dat ewentuele spesifieke reaksies tog agterweë bly, daar die prikkelbaarheid van die onrustige spier deur die weinige spanning nie verander nie. Hierdie metode het dan ook nie verbetering in die tegniek gebring nie, en is later ook nie meer gebruik van gemaak nie.

---

[1]) Jl. of Pharmacol. Vol. 4. 1912-'13, p. 84.

b. *Deur toevoeging van sedativa.*

By die eerste proewe waar die beswaar ondervind was van te groot uteruskontraksies was die mening eers dat deur kalm te wag die spiere na verloop van tyd tog miskien rustiger en geskik sou word om proewe mee te kan doen. Dit was egter heeltemal nie die geval nie. So was bevoorbeeld smorens die uterushoorns van 'n Guinese biggie uitgeneem en op Dale-Ringer geplaas, en saans om 10 uur was die spiere nog net so onrustig as by die begin. Daarom was dit ook saak om in die gevalle waar die spiere „in heat" was 'n middel te vind om hulle rustiger te maak en tog nog geskik vir die proewe. Een van die mees voor die hand liggende middels is adrenaline, omdat die werking daarvan op gladde spiere goed bekend is. Wat betref die invloed van adrenaline op die uterusspiere in vitro van Guinese biggies word verwys naar die ondersoekings van MAX TUROLT [1]) waaruit blyk dat toevoeging van 0.2 cm³ adrenaline 1 ‰ op 100 cm³ normale Ringer-vloeistof 'n verslapping van die spiere veroorsaak. Dat die uterusspiere tog nog prikkelbaar bly na die inwerking van adrenaline leer die proewe van SUGIMOTO [2]) oor die antagonistiese werking van Histamine en Adrenaline, wat deur my proewe ook bevestig kon word. Ook is gemerk dat by die spiere, nadat 'n weinig Adrenaline toegevoeg was, 'n tydlang na 'n verslapping weer reëlmatige kontraksies opgetree het.

Verder is van Cocaine 10 % gebruik gemaak. Toevoeging van 0.01—0.02 cm³ het eers 'n prikkeling veroorsaak en daarna het 'n verslapping gevolg. Toevoeging van 0.3 cm³ Histamine 1 ‰ het weer 'n kontraksie veroorsaak. Die resultate van die spesifieke reaksies was egter geheel onbevredigend. Wel was geringe spesifieke reaksies aantoonbaar vir roggepollenekstrakte, maar uit my later beskouwings sal egter blyk dat aan die spesiwisiteit van hierdie roggepollenreaksies ook getwyfel moet word. Dis heel waar-

---

[1]) Archiv f. Gynaec. 115, 1922, S. 600.

[2]) Archiv f. Exp. Path. und Pharmak, Dl. 74, 1913, S. 27.

skynlik dat deur toevoegings van die analgeticum spesifieke reaksies nie meer aantoonbaar is nie en tog langs andere weë 'n oplossing gevind moet word.

c. *Ovariotomie en bestraling van die ovaria.*

Dale en later ook ander ondersoekers het daar al op gewys dat tydens die bronsperiode van die Guinese biggies die uterusspiere baie onrustiger was en dat in die winter maande die diere beter geskik was vir die proewe. As 'n mens nou ook oor 'n baie groot stal kon beskik was dit miskien moontlik om vernaamlik dan tydens die winter maande die proewe te doen. Die voortplanting van die diere is egter swinters sterk afgeneem en bowendien is die sterftesyfer onder die kleintjies groter. Die gevolg is dan ook dat met 'n klein stal weinig proefdiere te verkry is en temeer as baie kleintjies ook nog mannetjies is, sodat die proewe prakties dan maar weinig vooruitgang kan maak. In aanmerking dus geneem die feit dat tydens die bronsperiode die spiere in aktiwiteit toeneem, is dit interessant gewees om te sien wat vir invloed uitskakeling van die funksie van die ovaria op die uterusspiere sou uitoefen. Om dit te kan doen beskik ons natuurlik oor Röntgen bestraling, maar soos direk sal meegedeel word, het dit geblyk dat ovariotomie by die Guinese biggies gemaklik en gou uit te voer is en 'n mens dan tewens ook absoluut seker is dat die funksie van die kliere uitgeskakel word. Ten einde dit alles te kon bestudeer is twee reekse op die Radiologiese Instituut alhier, bestraal, die eerste reeks met 'n ligtere dosis as die twede. Die doseringe van die Röntgenstrale was so gekies dat steriliteit baie waarschynlik moes optree en als volg geneem:

1. *a.* 3 mm. Alumin.
   170 k.v.
   Gedurende 8 min. en ooreenkomstig met $^{7}/_{16}$ H.E.D. (Huiderytheem dosis).
   b. 3 mm. Alumin.
   170 k.v.
   Gedurende 15 minute en ooreenkomstig met $^{3}/_{8}$ H.E.D.

2. Op 30 cm huidfokus afstand 3 mm Al. 4 m.A. 180 kilovolt. 10 minute — ooreenkomstig met 8 H (12 H = 1 Huiderytheem dosis).

Verder was die Guinese biggies voorbehandel met perdeserum. Tans 'n beskrywing hoe die ovariotomie regs en links deur my verrig was. Die dier word op 'n cavia bankie met die buikkant na onder toe vasgebind. Met 'n skêr

Fig. 2. Skema cavia met aanduiding waar ovariotomie verrig word.

word die hare op die rug vanaf die ondergrens van die laagste ribbetjies vir ongeveer 3 vingerbreed naar benede toe so kort moontlik afgeknip. Dis natuurlik van belang dat verder steriel gewerk moet word. Die huid waar die hare weggeknip is, en ook in die omgewing, word met

joodtinktuur ingesmeer. Die plek om in te gaan en juis die ovarium te tref (fig. 2) is 'n vingerbreed onder die laagste rib en ± 1 cm opsy van die werwelkolom.

Onder plaaslike verdowing (2 à 3 cm^3 Novocaine 0.5 % 'n paar druppels Adrenaline 1 ‰ onder die taaie huid en in die rugspiere ingespuit) word op die genoemde plek 'n ± 4 cm lange vertikale huidsny gemaak. In die diepte word verder stomp gewerk en sodra 'n mens deur die spierlae is kom die onderste pool van die nier voor die dag, en vlak onder die nier sit 'n klein ertgrote ovarium in 'n string van vethoudende weefsel wat in noue verbinding staan met die boonste deel van die uterushoorn. Die ovarium word gepak, dubbel onderbind met „Catgut" en verwyder. Dan volg die gewone wondsluiting, naamlik die spierlae met „Catgut" en die huidwond met sy-hegtings. Kollodium pleisters op die wonde dien as verbande.

Die operasie kan met 'n bietjie oefening in 'n kort tyd uitgevoer word en die diere verdra die ligte ingryp vrywel sonder verskynsels.

Eweas by die reekse met bestraling is die reeks met ovariotomie ook voorbehandel met perdeserum. Vir hierdie reekse was die diere natuurlik met opset so gekies dat hulle teen die tyd wat hulle geskik was vir die proewe baie swaarder as 300 g. moes weeg, en so het die swaarste dier dan ook 550 g. geweeg. Die resultate van die eksperimente was, aangesien die hoë gewigte wat die diere bereik het, baie gunstig. Die besonderhede van die proewe sien ons in hoofstuk III.

d) Wysiging in die samenstelling van die Dale-Ringer.

Dale het oorsponklik die proewe gedoen met Locke-Ringer waarvan die samestelling as volg is: NaCl 9.0; KCl 0.42; $CaCl_2$ 0.24; Dextrose 1.0; $NaHCO_3$ 0.5; per liter Aqua Dest. Die enigste verskil met die latere Dale-Ringer is die $CaCl_2$ gehalte, naamlik 0.24 instede van 0,12 per liter Aqua Dest. Deur 'n vergissing op 'n keer by die bereiding van Locke-Ringer is 0.12 instede van 0,24 $CaCl_2$ per liter geneem. Dale

het toe gemerk dat die uterusspiere in hierdie RINGER gouer rustiger was en tog pragtige reaksies vertoon het. Na die fout toe ontdek was het hy egter die samenstelling so gelaat en verder altyd so klaar gemaak vir proewe. DALE [1]) het wel ook nog ander wysigings gemaak in die samenstelling van Locke-Ringer maar ek het daar nie gebruik van gemaak by my proewe nie en wil daar hier ook nie verder oor uitweie nie.

Melding verdien egter die proewe gedoen deur van DYKE en BAIRD HASTINGS [2]) omdat hulle noukeurige ondersoekings gedoen het, hoe die uterusspiere in vitro van Guinese biggies hulle gedra het in Ringer-vloeistowwe waarvan die kalkgehaltes gewysig was. Uit hulle proewe blyk dat die spiere baie minder prikkelbaar word vir b.v. Pituitrine, as die kalkgehalte van die Ringer verminder word en in volkome kalklose Ringer slegs swakke reaksies vertoon.

So was aanvanklik ook in al die gevalle van my proewe waar die spiere „in heat" was, die Dale-Ringer vervang deur kalklose Ringer en in die meeste gevalle het die spiere na 'n poos op die kalklose Ringer rustig geword tot selfs volkome stilstand toe. Tog was daar nog 'n klein aantal spiere wat op kalklose Ringer ook nie kalmeer het nie en onbruikbaar gebly het vir die proewe. CAULFIELD COHEN en EADIE (l.c.) het meegedeel dat hulle op kalklose Ringer duidelike positiewe reaksies waargeneem het. Deur my is ook spesifieke positiewe reaksies gesien op kalklose Ringer en veral vir perdeserum. Die reaksies was egter in die meeste gevalle baie swakker as in die reël by mooi rustige spiere op Dale-Ringer. Opvallend was daarenteen dat in sommige gevalle van die proewe met kalklose Ringer 'n verslapping van die spiere opgetree het, deur toevoeging van allerlei stimulerende stowwe, en in enkele gevalle ook deur toevoeging van die spesifieke antigene, terwijl Histamine altijd weer 'n reaksie veroorsaak het, hoewel in geringer mate as op gewone Ringer.

[1]) Jl. of Pharmacol. Vol. 4, 1913, 517.

[2]) Americ. Jl. of Phys. 1927-'28, 83.

Gevolglik is die samenstelling van die Dale-Ringer deur my as volg gewysig. Sodra die uterusspiere te onrustig was op Dale-Ringer, was ververs met kalklose Ringer. Gewoonlik het die spiere dan rustig geword en sodra hulle heeltemal rustig was is op die 100 cm^3 kalklose Ringer in die bade met die spiere 1 cm^3 van 'n 0.6 op 100 cm^3 aq. dest. $CaCl_2$ oplossing toegevoeg en dus 'n Ringer oplossing met 0,06 $CaCl_2$ per liter verkry en d.i. dus die helfte van die dosis wat DALE gebruik het. Die spiere het in die reël na toevoeging van die 0,006 $CaCl_2$ rustig gebly en ook behoorlike spesifieke reaksies vertoon. Volgens hierdie metode is die aantal ongeskikte proefdiere baie sterk beperk geword en daar is dan ook altyd gebruik van gemaak by al die proefnemings waar die spiere te grote skommelinge vertoon het.

e) Die uterushoorns nie direk na die dood verwyder nie.

Aanvanklik het in baie gevalle geblyk dat as die hoorns direk na die nekslag van die diere uitgehaal was, hulle 'n tyd lang grote onreëlmatige skommelinge vertoon het, of in 'n „shock" toestand verkeer het. Die gevolg was dat soms baie lang gewag moes word voordat die spiere rustig was en 'n begin met die proewe gemaak kon word. Gevolglik het dan ook geblyk dat as die hoorns eers ongeveer 'n half uur na die nekslag uitgehaal was hulle baie keer direk of gou rustig was, waarom hierdie metode dan ook steeds toegepas was.

HOOFSTUK III.

RESULTATE

Alvorens die resultate van die proewe mee te deel, ewe nog weer 'n enkel woord oor die wyse van voorbehandeling van die diere. Soos reeds by die metodiek meegedeel is, was die diere voorbehandel met intraperitoneale inspuitings. In die reël het elke Guinese biggie 3 intraperitoneale inspuitings, ieder van 1.5 tot 2 cm^3 antigeen gekry en met tussenpose van 5 en 7 dae resp., na die eerste inspuiting. 'n Inkubasie periode van minstens 14 dae en langer was afgewag. Al die reekse het in die begin in hooi gesit en van alles gevreet soos brood, hawer, koolrape ens, maar soos hieronder verder duidelik gemaak sal word, het op 'n gegewe oomblik geblyk dat daar 'n alimentêre oorgevoeligheid of immuniteit vir grassoorte verkry kon word en daarmee 'n positiewe reaksie by die proewe van Dale. Dit was dan ook die rede dat die voeding verder volgens bepaalde reëls plaas gevind het en veral met die gramineeën by die indeling van die reekse rekening gehou was. Hieroor word later breedvoerig geskryf. Vervolgens dan 'n indeling en oorsig van die proewe wat verrig is:

§ 1. Guinese biggies voorbehandel met normale perdeserum.

A. Diere alleen met perdeserum ingespuit.
B. Reekse bestraal en perdeserum ingespuit.
C. Reekse Ovariotomie verrig en perdeserum ingespuit.

§ 2. GUINESE BIGGIES INGESPUIT MET GRASPOLLENEKSTRAKTE

A. Hooieters en ingespuit met pollenekstrakte van:
a) Rogge.
b) Holcus mollis.
c) Dactylis.

B. Guinese biggies op garsstrooi, grasvry en gramineeënvry voedsel en ingespuit met pollenekstrakte van:
a) Holcus mollis.
b) Rogge plus Festuca rubra.
c) Cynosurus.

C. Guinese biggies op turfstrooisel, grasvry en gramineeënvry voedsel, en ingespuit met pollenekstrakte van:
a) Dactylis glomerata.
b) Alopecurus pratensis.
c) Phleum pratense.

D. Guinese biggies op 'n uitgesoekte grassoort, verder grasvry en gramineeënvry voer en ingespuit met die gelyksoortige pollenekstrak:
a) Alopecurus pratensis,
b) Dactylis glomerata.

§ 3. GUINESE BIGGIES SONDER INSPUITINGS.

A. Hooieters.
B. Op turfstrooisel, grasvry en gramineeënvry voer.
C. Op garsstrooi, grasvry en gramineeënvry voer.
D. Op Phleum pratense, verder grasvry en gramineeënvry voer.
E. Op garsstrooi, gevoer met brood, hawer, suikerbiete.

§ 4. GUINESE BIGGIES OP 'N UITGESOEKTE GRASSOORT EN TOEVOERING PER OS VAN DIE GELYKSOORTIGE POLLENEKSTRAKTE.

A. Dactylis glomerata.
B. Lolium perenne.

§ 5. Ondersoekings oor histaminagtige stowwe in roggepollenekstrak.

§ 1. *Diere voorbehandel met normale perdeserum.*

Dat daar nie meer twyfel oor bestaan nie dat Guinese biggies gemaklik oorgevoelig gemaak kan word met dierlike eiwitsoorte, leer die proewe van Schultz, Dale e.a. (l.c.). Ook by immuun gemaakte Guinese biggies is die spesifieke reaksies volgens die Dale-metode aantoonbaar, soos reeds meegedeel is in die literatuur oorsig.

Vir die Dale-metode maak dit dan ook nie verskil of die diere anafilakties of immuun gemaak word nie. Gesien die genoemde wyse van voorbehandeling van die diere met perdeserum, het die Guinese biggies soos ook verwag was, eerder immuun as anafilakties geword. Gevolglik het dan ook slegs twee uit 'n aantal van 14 Guinese biggies doodgegaan in 'n anafilaktiese „shock" deur intraweneuse inspuitings van 0.5 cm^3 perdeserum na die verstreke inkubasie periodes. Die „shock" dood van die twee diere was heeltemal ooreenkomstig soos eers deur Auer en Lewis (l.c.) beskryf is, naamlik dat long verskynsels hoofsaaklik op die voorgrond getree het. Die intraweneuse inspuitings van die diere met perdeserum was egter maar bysaak en verdien hier alleen maar melding, daar tog die doel van voorbehandeling met perdeserum heeltemal 'n andere was, naamlik om die invloed van kastrasie en bestraling van die ovaria op die aktiwiteit en spesifieke reaksies van die uterusspiere in vitro te bestudeer. In geheel was dan 19 Guinese biggies, voorbehandel met perdeserum gebruik vir hierdie proewe en 17 het duidelike positiewe spesifieke reaksies vertoon. Om nou die invloed van die bestraling en ovariotomie te bestudeer op:

a) *Rustig of nie-rustig bly van die hoorns.*

b) *Reaksie of nie-reaksie met die spesifieke antigeen.*

is dit die beste te doen deur 'n vergelyking te maak tussen die groepe A, B en C.

A. *Guinese biggies alleen met perdeserum voorbehandel.*

Van die 4 diere wat met perdeserum ingespuit was het 1 deur onbekende oorsaak doodgegaan. Een van 360 g. in gewig op die dag van proefneming, het ongeskik geblyk vir die proef deurdat die uterushoorns in vitro te grote skommelinge gemaak het op die vloeistof van DALE en toe ook nog nie aan die moontlikheid gedink was om met Ringer sonder kalk te werk nie. Hierdie mislukte proef in die begin was dan ook aanleiding dat vir die volgende proewe steeds Ringer-vloeistof sonder kalk gereed was, in geval daarmee ververs moes word.

Eintlik is van hierdie groep dus alleen met 2 diere proewe gedoen en wel met nommers 6 en 7, soos ook reeds meegedeel is by die bespreking van die metodiek.

Cavia No. 6. (327 g.). Die hoorns was so onrustig op die vloeistof van Dale, dat die bade ververs moes word met Ringer sonder kalk, waarna die spiere ook rustig geword het en met die proef 'n aanvang gemaak kon word. Toevoegings van 0,5 cm^3 albumen ovi crist. 4 % bij elk van die bade A en A′ het nie invloed op die spiere gehad nie. Toevoeging van 0.1 cm^3 perdeserum by Hoorn II was totaal negatief terwyl 0,1 cm^3 perdeserum by Hoorn I 'n duidelike positiewe reaksie veroorsaak het. Die bade was direk ververs met Ringer sonder kalk. Die hoorns het egter, nadat hulle in aanraking was met perdeserum, weer grote skommelinge gemaak, wat ook aangehou het. Deur toevoeging van 'n paar druppels Adrenaline $^1/_{1000}$ is probeer geword om die spiere tot rus te bring. 'n Verslapping het opgetree wat kort geduur het om daarna weer matige skommelinge te vertoon. Verdere toevoegings van perdeserum in grotere doses het nie meer reaksies vertoon nie.

Cavia No. 7. (319 g.) Slegs 1 hoorn was uitgeneem, en die was rustig op Dale-Ringer. Toevoeging van 0.5 cm^3 albumen ovi crist. 4 % was negatief, terwyl 'n sterke reaksie opgetree het deur toevoeging van 0.01 cm^3 perdeserum. Direk was die bad ververs met Dale-Ringer maar die spier het eweas by cavia 6 die geval was, na aanraking met

perdeserum grote skommelinge gemaak. Nieteenstaande 4 keer verversing van die bad met Dale-Ringer het die spier na 'n uur afwag nog onrustig gebly, sodat ververs moes word met kalklose Ringer. Hierna het die spier volkome rustig geword en toe is 1 cm^3 van 'n 0.6 % $CaCl_2$ oplossing aan die bad toegevoeg. Toevoeging van 0,03 cm^3 perdeserum [Fig. 1] het weer 'n mooi reaksie vertoon, waarna die bad weer direk ververs was met Ringer sonder kalk plus latere toevoeging van 0,006 $CaCl_2$. Verdere toevoegings van perdeserum het nog één keer 'n ligte reaksie veroorsaak maar

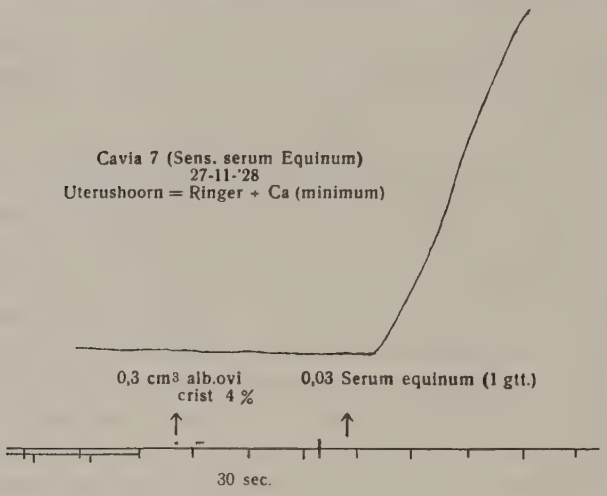

Fig. 1. Kurwehoogte (origineel) 64 mm.
Kurwehoogte hierbo is 46 mm.

daarna nie meer nie. Uit die enkele voorproewe het voldoende geblyk dat die waarnemings van die vroeër ondersoekers juis was, dat die uterusspiere van Guinese biggies oor 300 g. in gewig, vir die grootste deel „in heat" is en ongeskik vir dergelike proewe, tensy andere kunsgrepe toegepas word om die spiere te kalmeer. Verder het ook geblyk soos reeds deur DALE opmerksaam gemaak was, dat die spiere na aanraking met die spesifieke antigene baie keer onrustig geword het. 'n Feit wat ook baie keer waargeneem is by die verdere proewe.

B. *Reekse bestraal en met perdeserum ingespuit.*

Vir hierdie reekse was die ovaria van 7 Guinese biggies, met toepassing van die ligste doses bestraal soos vermeld by die metodiek. 4 Diere het gesit in hooi en van alles gevreet terwyl 3 op garsstrooi gesit het en gevoer was met grasvry en gramineeënvry voedsel.

In hooi het gesit:

Cavia no: 51. (510 g.)
52. (550 g.)
53. (390 g.)
54. (390 g.)

op garsstrooi:

Cavia no: 67 (345 g.)
69 (360 g.)
70 (380 g.)

Die tyd vanaf die dag van bestraling tot by die dae van die verskillende proewe met die bogenoemde diere, het gevariëer van 39 tot 55 dae. Die diere op hooi het in gewig toegeneem varierende van 105 tot 150 g. Een van die Guinese biggies op garsstrooi het slegs 10 g. in gewig toegeneem en die twee andere 85 en 135 g. resp.

Al die diere het baie swaarder geweeg as 300 g. en die swaarste selfs 550 g. Die uterusspiere in vitro van al hierdie diere, behalwe caviae no. 52 (550 g.) en 67 (345 g.) was mooi stil op Dale-Ringer en geskik vir die proewe. Die hoorns van caviae 52 en 67 was egter ook gou rustig na ververs was met Ringer sonder kalk en 'n rukkie later 0.06 $CaCl_2$ per L. toegevoeg is. Al die diere het duidelik positiewe reaksies vertoon op *perdeserum.*

Van die diere wat op hooi gesit het was duidelik positiewe reaksies gesien vir *Lolium perenne* by Caviae 51; 52; en 54 en vir *Dactylis* by Cavia 54. Hierdie reeks caviae het ook positiewe reaksies vertoon op Rogge. Verder het 4 diere matige reaksies vertoon op skapeserum. Die reeks op garsstrooi het op geeneen van die grassoorte positiewe reaksies vertoon nie. Op rogge het hierdie reeks ook almal duidelike positiewe reaksies vertoon. Hierdie reaksies op

nie vir die sensibilisasie gebruikte graminieeën was eers nie reg begryplik nie, totdat dit egter duidelik geword het, dat die voeding 'n sekere rol speel by die proewe.

Die alimentêre kwessie word egter in Hoofstuk IV verder bespreek. Die invloed van die bestraling op die gedrag van die spiere, gesien die gewigte van die proefdiere, is ongetwyfeld gunstig te noem daar die meeste spiere selfs geskik was vir die proewe sonder toepassing van kalklose Ringer. Deur die bestraling was seker ook nie te kort gedoen aan die spesifieke reaksies nie. Die mikroskopiese ondersoek van die bestraalde ovaria het die volgende opgelewer: In gewoon „coupes" was geen histologiese verskille te sien nie tussen bestraalde en nie-bestraalde ovaria. Bij telling van die aantal eiers in serie „coupes" van 'n nie-bestraalde en 'n bestraalde ovarium (± 2 mnd. na bestraling) was die uitslag ongeveer dieselfde:

Bestraalde 50 eiers.

Nie-bestraalde 55 eiers.

Uit die histologiese beelde is die gunstige invloed van die Röntgenbestraling op die rustig bly van die spiere dus nie te verklaar nie.

C. Reeks ovariotomie verrig en met perdeserum ingespuit.

Vir hierdie reeks was by 10 Guinese biggies oor die 300 g. in gewig ovariotomie verrig. Daarna het die diere gesit op garsstrooi en het grasvry en gramineeënvry voer gekry. Die gewigte van die diere op die dae van die proewe het gevariëer tussen 330 en 480 g. Die meeste diere het 10 tot 80 g. agteruit gegaan in gewig. Die diere het na verloop van die proewe 34 tot 58 dae op die diëet geleef. Van hierdie reeks was al die uterusspiere in vitro geskik vir die proewe op Dale-Ringer en by 7 diere was duidelik positiewe reaksies gesien vir *perdeserum*. Ook vir roggepollenekstrak was by 7 diere positiewe reaksies gesien. Opvallend was by hierdie reeks dat al die uterusspiere negatief was op toegevoegde pollen-ekstrakte van Dactylis, Phleum pratense, Lolium perenne, Holcus mollis, as ook op 10 % ekstrakte van hooi

en garsstrooi. Deurdat die diere in hierdie reeks ook baie swaarder as 300 g. geweeg het, was die invloed van die ovariotomie op die beweeglikheid van die uterusspiere in vitro gunstig. Ook was spesifieke reaksies duidelik aantoonbaar, hoewel tog vermeld moet word, dat die spesifieke reaksies nie so sterk opgetree het nie as gewoonlik die geval was by oorgevoelige uterusspiere van jong Guinese biggies wat op Dale-Ringer rustig was. Die mindere aktiwiteit en prikkelbaarheid van die spiere sou natuurlik, behalwe aan die ovariotomie, ook toegeskryf kan word aan die gramineeënvry voer, daar uit die latere proefnemings waar spesiaal met die alimentêre oorgevoeligheid in die voedingswyse rekening gehou was, geblyk het dat die Guinese biggies baie gevoelig was vir grasvry en gramineeënvry voer. Hierdie vraagstuk sal egter in die volgende hoofstuk ook nader bespreek word.

Bowendien kan die leeftyd van die diere ook 'n rol speel daar oor die algemeen die reaksies by uteri van jongere diere sterker is.

REKAPITULASIES.

Perdeserum

totaal aantal proefdiere	totaal aantal spesifiek positief
19	17

By 17 proefdiere roggepollenekstrak toegevoeg en by 14 positiewe reaksies gesien.

By die bestraalde reeks het van die 4 caviae wat in hooi gesit het:

3 positief reageer op *Lolium perenne-pollenekstrak*
1 positief reageer op *Dactylis glomerata-pollenekstrak*
1 positief reageer op *Phleum pratense-pollenekstrak*

By die res van die proefdiere was toevoegings van verskillende graspollenekstrakte steeds negatief.

§ 2. *Guinese biggies ingespuit met graspollenekstrakte.*

A. *Hooieters en ingespuit met pollenekstrakte (30,000 E.) van:*

a) *Rogge.*

Van hierdie reeks was 11 Guinese biggies gebruik vir die proewe, naamlik caviae 8, 9, 10, 11, 13, 15, 16, 17, 67, 116 en 117. Die gewigte van die diere het volgens die dae van die proewe geskommel tussen 255 en 490 g. By 5 diere het die uterusspiere te grote skommelinge gemaak op Dale-Ringer sodat ververs moes word met Ringer sonder kalk en nadat die spiere rustig was, is 0,060 $CaCl_2$ per liter toegevoeg. Melding verdien dat 2 van hierdie 5 diere onder 300 g. geweeg het, naamlik caviae 16 (255 g.) en 8 (275 g.). Cavia 14 (365 g.) was totaal ongeskik vir die proef deurdat die uterushoorns ook op Ringer sonder kalk onrustig gebly het. In die gevalle waar ververs was met Ringer sonder kalk was op verskillende van die stimulerende stowwe ligtere tot sterkere dalinge gesien soos vermeld by die metodiek hoofstuk II. Bij 10 van die 11 proefdiere was duidlik positiewe reaksies gesien op *roggepollenekstrakte*, Die reaksies op Rogge was egter herhaaldelik aantoonbaar by die uterusspiere van al die diere, onverskillig of die opvolgende doses na verversinge van die bade kleiner of groter was as die begin dosis. 'n Feit wat roggenpollen al direk in 'n ander rubriek geplaas het as die ander pollensoorte en aanleiding was vir verder ondersoek hieroor, waaruit geblyk het, dat al hierdie rogge reaksies *nie spesifieke sensibilisasie-reaksies is nie*, dog heeltemal iets anders, waaroor in § 5 verder berig sal word.

Owerigens was al die uterusspiere negatief op die verskillende toegevoegde graspollenekstrakte. Om seker te maak dat karbol ('n bestanddeel van die ekstraksie vloeistof) nie invloed het op die waarde van die proewe nie, was sommige van die diere voorbehandel met verse roggepollenekstrak sonder karbol en die ander met roggepollenekstrak plus karbol. Die uitkomste van die proewe was in beide gevalle gelyk, sodat karbol seker nie 'n nadelige invloed het nie. Opvallend was my egter dat rogge injeksies minder mooi die besondere rogge reaksies gee.

Ook was in hierdie reeks by caviae 8; 11; 13; 14; 15;

16; en 17 huidreaksies gedoen deur intrakutane inspuitings van 0.1 cm^3 roggepollenekstrak 3 % en dieselfde dosis van 'n willekeurige ander pollenekstrak 3 % as kontrole. Die huidreaksies was egter by al die diere, behalwe cavia 8, totaal negatief. Bij cavia 8 het één uur na die injeksies van roggepollenekstrak 0.1 cm^3 en Lolium perenne 0.1 cm^3 op die plek van rogge 'n kwaddel van 2.2×2.2 cm ontstaan wat 'n dag bestaan het en in die loop van die volgende dag eers verdwyn het. Die huidreaksies was ook verrig 14 dae en iets langer na die laatste injeksies van die spesifieke antigeen.

Bowendien is by caviae 8, 10, 11, 67, 13, 15 en 16 die „shockmetode" toegepas deur intraweneuse injeksies met doses varierende van 0,25 tot 0,5 cm^3 roggepollenekstrak by elke dier.

Alleen by cavia 11 het verskynsels van „shock" enkele minute na die injeksie van roggepollenekstrak opgetree, soos benoudheid, intrekkings van die borskas, af en toe krampe deur die hele liggaam van die dier, maar na $\pm$ 15 minute het die dier weer heeltemal herstel. By die ander Guinese biggies was die intraweneuse injeksies totaal negatief.

'n Verklaring vir die negatiewe huidreaksies is waarskynlik, dat die Guinese biggies immuun was op die dae van die proewe. Eweneens sou hierdie verklaring ook kon geld vir die negatiewe resultate van die „shock" metode.

Rekapitulasies: Rogge. 11 proefdiere. Positief Rogge 10
Toevoeginge van graspollensoorte steeds negatief.

b) *Holcus mollis:* Van die 5 diere in hierdie reeks, n.l. caviae 19; 20; 21; 22 en 23 het slegs cavia 19 'n duidelik positiewe reaksie vertoon op Holcus mollis pollenekstrak. By caviae 20 (300 g.); 21 (246 g.) en 22 (267 g.) was die hoorns onrustig op Dale-Ringer en moes ververs word met Ringer sonder kalk en na die spiere rustig was, is weer

0,06 $CaCl_2$ per liter toegevoeg. Die uterusspiere van caviae 21, 22 en 23 was duidelik positief op *Roggepollenekstrak* en caviae 19, 20 23 het positiewe reaksies vertoon op *Cynosurus*. Cavia 22 was mooi positief op pollenekstrak van *Lolium perenne*. Fig. 2. Huidreaksies bij caviae 21 en 22 verrig was heeltemal negatief. Cavia 23 het ligte „shock"

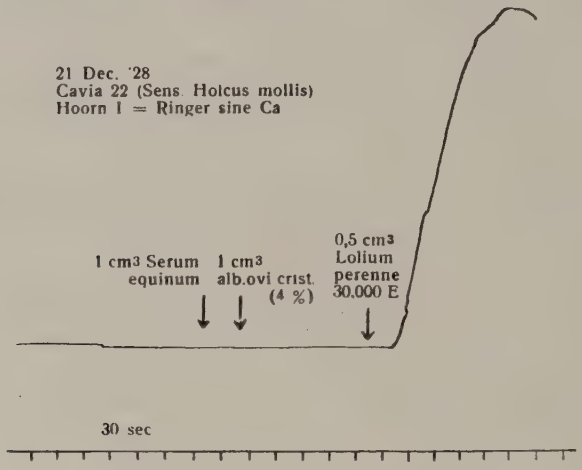
21 Dec. '28
Cavia 22 (Sens. Holcus mollis)
Hoorn I = Ringer sine Ca
1 cm3 Serum equinum
1 cm3 alb.ovi crist. (4 %)
0,5 cm3 Lolium perenne 30.000 E
30 sec

Fig. 2. Kurwehoogte (origineel) 66 mm.
„ hierbo is 45 mm.

verskynsels soos cavia 11 vertoon deur 'n 0,3 cm^3 intraweneuse injeksie van Holcus mollis pollenekstrak.

Rekapitulasies: Holcus. 5 proefdiere positief Holcus 1
„ Rogge 3
„ Cynosurus 3
„ Lolium 1

c) *Dactylis glomerata*. Van die 2 Guinese biggies, nommers 114 en 115, wat vir hierdie reeks gebruik was, het alleen cavia 114 duidelik positiewe reaksies vertoon op Dactylis en wel 2 keer agtermekaar. Die uterushoorns van beide diere het mooi reaksies vertoon op *Roggepollenekstrak*. Cavia 115 was duidelik positief op *Lolium perenne*. Op-

vallend was hier dat die uterusspiere, hoewel van beide diere flink groot en die gewigte van die diere 368 g. en 498 g. was, tog behoorlik rustig was op Dale-Ringer.

Rekapitulasies *Dactylis:*

2 proefdiere: positief Dactylis 1
„ Rogge 2
„ Lolium 1

B. Guinese biggies op garsstrooi, grasvry en gramineeënvry voer en ingespuit met pollenekstrakte (30.000 E.) van:

a) Holcus mollis.

Hierdie reeks, caviae *34* (210 g.), *35* (225 g.), *36* (210 g.) en *37* (220 g.), het maar 'n kort tyd in aanraking gewees met hooi deurdat die diere so jonk moontlik op garsstrooi geplaas was en gevoer met koolrape en grondnotemeelkoeke. Die diere het op die diëet volgens die dae van die proewe toegeneem in gewigte varierende van 51 tot 71 g. Slegs by cavia 37 was één keer 'n mooi positiewe reaksie gesien op *Holcus mollis* en reaksies op *Rogge.* Die uterusspiere van al die ander diere in hierdie reeks was negatief op die toegevoegde graspollenekstrakte en selfs ook op Roggepollenekstrak. Verder was intraweneuse inspuitings (0.5 cm^3 Holcus pollenekstrak) gedoen by caviae 34, 35, 36 maar by geeneen van hierdie diere het verskynsels van „shock" opgetree nie. Al die uterusspiere in hierdie reeks was mooi rustig op Dale-Ringer.

Rekapitulasies: *Holcus:*

4 proefdiere: positief Holcus 1.
verder alles negatief, ook Rogge.

b) Rogge en Festuca rubra.

Die reëling van die voeding by hierdie reeks was dieselfde soos bogenoem by reeks *a*). Met die oog op multipele oorgevoeligheid was 4 caviae nommers *12* (250 g.), *25* (290 g.), *26* (240 g.) en *27* (240 g.) ingespuit met pollenekstrakte van Rogge en Festuca rubra. By caviae 12, 26 en 27 was mooi positiewe reaksies gesien op *Roggepollenekstrakte* en matig

positiewe reaksies op *Festuca rubra.* Die reaksies op Festuca rubra was by al die uterusspiere maar één keer aantoonbaar, op Rogge meermale; Cavia 12 het bowendien duidelik 'n positiewe reaksie vertoon op *Lolium perenne.* Owerigens was die uterusspiere van al die diere in hierdie reeks negatief op toevoegings van pollenekstrakte van ander grassoorte. Intraweneuse inspuiting van 0,5 cm^3 Roggepollenekstrak by cavia 12 was negatief. Al die uterusspiere was rustig op Dale-Ringer.

Rekapitulasies *Rogge en Festuca rubra:*

4 proefdiere: positief Rogge 3
„ Festuca 3
„ Lolium 1
verder negatief.

c) *Cynosurus:*

Vir hierdie reeks is met 2 Guinese biggies, caviae *31* (260 g.) en *32* (250 g.) proewe gedoen. Cavia 32 het twee keer duidelik positiewe reaksies vertoon op *Cynosurus* en ook reaksies op *Roggepollenekstrak.* Cavia 31 het alleen 'n positiewe reaksie vertoon op *Dactylis* en beide hoorns het slegs één keer positief reageer op Dactylis-pollenekstrak. Die uterushoorns van cavia 31 het onrustig geword van die reaksies op Dactylis sodat ververs moes word met Ringer sonder kalk en later 0,06 $CaCl_2$ per L. aan die bade toegevoeg is. Die hoorns het hierna rustig geword maar was verder negatief op al die toegevoegde stimulerende stowwe. Inspuiting van 0,5 cm^3 Cynosurus pollenekstrak intraw. het nie verskynsels van „shock" veroorsaak nie.

Rekapitulasies *Cynosurus:*

2 proefdiere: positief Cynosurus 1
„ Rogge 1
„ Dactylis 1
verder negatief.

C. Guinese biggies op turfstrooisel, grasvry en gramineeënvry voer en ingespuit met pollenekstrakte van:

a) *Dactylis:*

Hierdie reeks proefdiere het bestaan uit 7 stuks, naamlik caviae *103* (285 g.) *104* (260 g.) *105* (320 g.) *106* (290 g.) *107* (220 g.) *108* (388 g.) en *109* (405 g.).

By 3 Guinese biggies, caviae 106, 107 en 108 was mooi positiewe reaksies gesien op *Dactylis*pollenekstrak. Die positiewe reaksies op Dactylis was by hierdie diere almal 2 keer aantoonbaar (o.a. Fig. 3). Verder het hierdie reeks

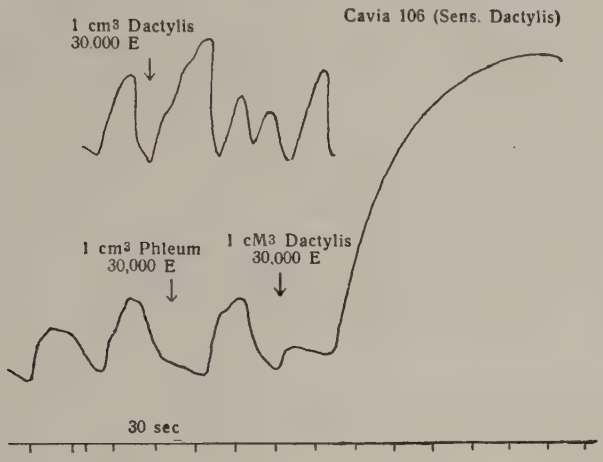

Fig. 3. Kurwehoogte = natuurlike grote.
één keer mooi positief op 1 cm³ Dactylispollenekstrak,
die 2e keer 'n swakke reaksie op 1 cm³ Dactylis.

behalwe cavia 103 duidelik reaksies vertoon op *Roggepollen*-ekstrak. Die uterusspiere van al die diere in hierdie reeks was rustig op Dale-Ringer en tewens negatief op die ander toegevoegde graspollenekstrakte.

Rekapitulasies *Dactylis:*

7 proefdiere: positief Dactylis 3
„ Rogge 6
alle andere grassoorte negatief.

b) *Alopecurus:*

Caviae *95* (167 g.) *97* (208 g.) *111* (339 g.) *112* (380 g.)

113 (354 g.) en *120* (382 g.) was gebruik vir hierdie reeks. Van die 6 diere het 4 mooi positiewe reaksies vertoon op *Alopecurus*pollenekstrak, naamlik Caviae 97, 111, 113 en 120. By cavia 97 (Fig. 4) was die positiewe reaksie op *Alopecurus*

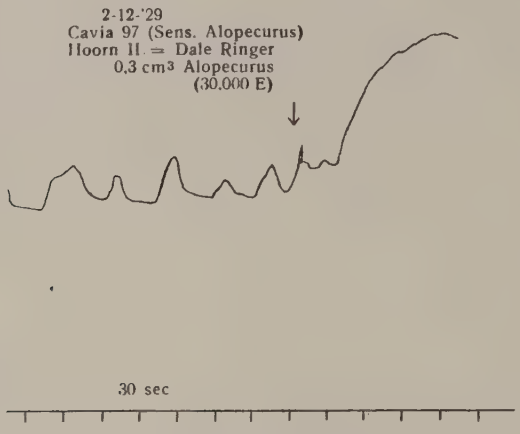

Fig. 4. Kurwehoogte (origineel) 24 mm.
„ hierbo is 22 mm.

slegs één keer aantoonbaar en by die res twee keer. By al die Guinese biggies in hierdie reeks het die uterusspiere positiewe reaksies vertoon op *Roggepollen*ekstrak. Verder was die uterusspiere van al die diere in hierdie reeks negatief op die ander toegevoegde graspollenekstrakte. Die uterushoorns van al die diere in hierdie reeks was rustig op Dale-Ringer.

Rekapitulasies *Alopecurus:*

6 proefdiere: positief Alopecurus 4
„ Rogge 6
verder negatief.

c) Phleum pratense:

Caviae *83* (205 g.) *84* (222 g.) *86* (273 g.) en *89* (285 g.). Van die 4 Guinese biggies het 1, naamlik cavia 86 'n positiewe reaksie vertoon op *Phleum pratensepollen*ekstrak.

Al die uterusspiere van die diere in hierdie reeks het ook

weer reaksies vertoon op *Rogge*pollenekstrak en was negatief op die ander toegevoegde graspollenekstrakte. Verder was die uterusspiere ook almal rustig op Dale-Ringer.

Rekapitulasies *Phleum:*

4 proefdiere: positief Phleum 1
„ Rogge 4
alle andere grassoorte negatief.

D. Guinese biggies op 'n uitgesoekte grassoort, verder grasvry en gramineeënvry voer en ingespuit met die gelyksoortige pollenekstrak (30.000 E.).

a) *Alopecurus.*

Caviae *124* (417 g.) en *125* (410 g.).

Die uterushoorns van hierdie twee diere het pragtige positiewe reaksies vertoon op *Alopecurus*pollenekstrak en ook op *Rogge*pollenekstrak. Die uterushoorns van cavia 125 was „in heat" en moes kalmeer word met Ringer sonder kalk en later is weer toegevoeg 0,06 $CaCl_2$ per L, wat ook weer gunstig was.

Rekapitulasies *Alopecurus:*

2 proefdiere: positief Alopecurus 2
„ Rogge 2

b) *Dactylis.*

Caviae *100* (365 g.) *101* (345 g.) *102* (375 g.) *121* (309 g.) *122* (322 g.) en *123* (308 g.) het almal behalwe cavia 123 pragtige positiewe reaksies vertoon op *Dactylis*pollenekstrak. By cavia 123 het die uterushoorns nie reageer op Dactylispollenekstrak nie. Van hierdie reeks het die uterusspiere ook almal mooi reaksies vertoon op *Rogge*pollenekstrak. By cavia 121 was 'n mooi reaksie gesien op *Lolium perenne.* Opvallend was dat by Hoorn I waar eers Lolium toegevoeg was tog nog 'n mooi reaksie opgetree het na toevoeging van Dactylispollenekstrak, terwyl by Hoorn II waar eers 'n pragtige reaksie gesien was vir *Dactylis,* nie 'n reaksie opgetree het nie deur toevoeging van Lolium perenne. Hierdie verskil in reaksies van die hoorns op Lolium perenne

en Dactylis glomerata moet verklaar word, dat daar heel waarskynlik 'n verwantskap bestaan tussen die twee pollensoorte. By caviae 100, 101 en 102 was die uterushoorns onrustig en moes kalmeer word met Ringer sonder kalk en later is 0,06 $CaCl_2$ per L. toegevoeg, ook weer met gunstig gevolg.

Rekapitulasies *Dactylis:*

6 proefdiere: positief Dactylis 5
„ Rogge 6
„ Lolium 1

§ 3. Guinese biggies sonder inspuitings.

A. Hooieters.

Caviae *39* (422 g.) *40* (355 g.) *42* (329 g.) en *43* (390 g.). Van hierdie reeks was die ovaria van caviae 40, 42 en 43 bestraal op 14.1.'29.

Cavia 40 was gebruik vir die proewe 14 dae na die bestraling, terwyl 42 en 43, 7 dae en 21 dae resp. na die bestraling. Van die 4 Guinese biggies in hierdie reeks het 3 mooi reaksies vertoon op *Rogge*pollenekstrak, naamlik caviae 40, 42 en 43. Owerigens was al die uterusspiere negatief op die toegevoegde graspollenekstrakte.

Die uterushoorns van caviae 39 en 40 was „in heat" en daar moes dus ververs word met kalklose Ringer en later 0.06 $CaCl_2$ per L. bygevoeg word wat die spiere weer rustig gemaak het.

Rekapitulasies: hooieters:

4 proefdiere: positief Rogge 3
Toevoeging grassoorte negatief.

B. Op turfstrooisel, grasvry en gramineeënvry voer.

Caviae *71* (280 g.) *73* (290 g.) *74* (225 g.) *82* (145 g.) en *93* (405 g.). Van die 5 Guinese biggies was by 4 duidelik positiewe reaksies gesien op *Roggepollenekstrak.* Dit was nommers 71, 73, 82 en 93. Melding verdien hier dat cavia 93 sowat 6 maande op turfstrooisel gesit het en grasvry en

gramineeënvry voer gekry het terwyl die ander diere van hierdie reeks maar ongeveer één maand. Die rede waarom cavia 93 soveel langer op diëet geleef het sal egter in hoofstuk IV verder bespreek word. Van hierdie reeks was alleen die uterusspiere van cavia 93 „in heat" en sodoende ververs met Ringer sonder kalk .... 0.06 $CaCl_2$ per L. Van belang

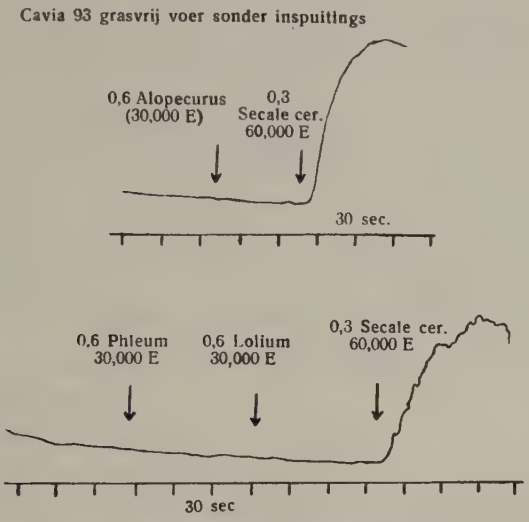
Cavia 93 grasvrij voer sonder inspuitings
0,6 Alopecurus (30,000 E)
0,3 Secale cer. 60,000 E
30 sec.
0,6 Phleum 30,000 E
0,6 Lolium 30,000 E
0,3 Secale cer. 60,000 E
30 sec

Fig. 5. Kurwehoogte (origineel) 25 mm.
„ hierbo is 22 mm.

is hier reeds ook te vermeld dat cavia 93 op geen enkel graspollenekstrak reageer het nie, maar wel mooi reaksies vertoon het op *Roggepollenekstrak* (fig. 5).

Rekapitulasies: 5 proefdiere: positief Rogge 4 verder negatief.

C. Op garsstrooi, garsvry en gramineeënvry voer.

Caviae *56* (255 g.) en *57* (210 g.).

Hierdie twee Guinese biggies was kort na die geboorte op garsstrooi geplaas en gevoer met grasvry en gramineeënvry voedsel. Beide diere het op Roggepollenekstrak ligte reaksies vertoon, maar het op geeneen van die toege-

voegde graspollenekstrakte reaksies vertoon nie. Die uterusspiere van beide diere was trouens weinig prikkelbaar en het selfs op 0.5 cm^3 Histamine $^1/_{1000}$ maar weinig reaksies vertoon.

Rekapitulasies: 2 proefdiere: positief Rogge 2.
verder negatief.

D. Op Phleum pratense, verder grasvry en gramineeënvry voer.

Caviae *76* (275 g.), *77* (309 g.), *78* (245 g.), *79* (370 g.) en *81* (433 g.) het almal weer mooi reaksies vertoon op *Roggepollenekstrak.* Cavia 79 was die enigste wat 'n twyfelagtige reaksie vertoon het op *Phleum pratense,* maar 'n mooi reaksie op *Lolium perenne.* Die uterushoorns van hierdie reeks diere was ook negatief op die ander graspollensoorte.

Al die uterusspiere was rustig op Dale-Ringer.

Rekapitulasies: 5 proefdiere: positief Rogge 5
„ Lolium 1
Toevoeging ander graspollens negatief.

E. Op garsstrooi, gevoer met brood, hawer en suikerbiete.

Caviae *85* (287 g.), *88* (390 g.), *90* (287 g.), *92* (362 g.) en *118* (382 g.). Hierdie diere het almal mooi reaksies vertoon op *Roggepollenekstrak,* maar was negatief op die toegevoegde graspollenekstrakte. Die uterushoorns van caviae 88 en 90 was „in heat" op Dale-Ringer en was kalmeer met sukses deur Ringer sonder kalk en met latere toevoeging van 0.06 $CaCl_2$ per L.

Rekapitulasies: 5 proefdiere: positief Rogge 5
grassoorte negatief.

4. *Guinese biggies op 'n uitgesoekte grassoort en toevoering per os van die gelyksoortige pollenekstrakte.*

A. Dactylis glomerata.

Vir hierdie reeks was gebruik 3 caviae n.l. nos. 126 (337 g.), 127 (261 g.) en 129 (259 g.).

Alleen by cavia 126 het die uterushoorns mooi positief reageer op Dactylis pollenekstrak. Ook was 'n mooi reaksie gesien vir Lolium by cavia 126. Vir beide Dactylis en Lolium, was nog slegs één keer 'n swakke reaksie gesien na verversing van die bade.

Die uterushoorns van al die diere in hierdie reeks het mooi reaksies vertoon op Roggepollenekstrak.

Die uterushoorns van caviae 127 en 129 was rustig op Dale-Ringer, terwyl die uterushoorns van cavia 126 onrustig was op Dale-Ringer en ververs moes word met Ringer sonder kalk, en later is weer 0,06 $CaCl_2$ per L. toegevoeg.

Rekapitulasies: 3 proefdiere: positief Dactylis 1
„ Lolium 1
„ Rogge 3
Ander toegevoegde grassoorte negatief.

B. Lolium perenne.

Caviae 131 (395 g.), 132 (350 g.), 134 (330 g.) en 135 (344 g.). Van hierdie reeks was by caviae 131 en 134 mooi positiewe reaksies gesien op Lolium. Die ander toegevoegde grassoorte was by al die diere in hierdie reeks negatief.

Hierdie reeks caviae het ook weer almal mooi reaksies vertoon op Roggepollenekstrak. Al die uterushoorns van hierdie reeks diere was onrustig op Dale-Ringer en moes kalmeer word met Ringer sonder kalk en nadat die spiere rustig was is weer 0,06 $CaCl_2$ per L. toegevoeg.

Rekapitulasies: 4 proefdiere: positief Lolium 2
„ Rogge 4
Ander toegevoegde grassoorte negatief.

§ 5. Ondersoekings oor histaminagtige stowwe in roggepollenekstrak.

Soos in die literatuur oorsig (Hoofstuk I, § 3) vermeld is het Walzer en Grove reeds opgemerk dat roggepollen

waarskynlik aktiewe bestanddele bevat wat nie in ligtere pollens aanwesig is nie en aanspreeklik gestel moet word vir die gemaklikheid waarmee DUNBAR en ALEXANDER Guinese biggies oorgevoelig kon maak met roggepollen. Verdere gegewens oor die sogenaamde aktiewe stowwe in roggepollen is in die literatuur nie te vind nie. My eerste reekse proefdiere met pollensoorte was ook voorbehandel met roggepollenekstrak.

Deurdat vrywel al die proefdiere pragtige reaksies vertoon het op roggepollenekstrak was aanvanklik die mening dan ook dat die spesiwisiteit van roggepollen volgens die Dale-metode gemaklik aantoonbaar is. By die eersvolgende reeks proefdiere egter, voorbehandel met Holcus mollis-pollen-ekstrak was al opvallend dat baie van hierdie proefdiere positiewe reaksies op roggepollenekstrak vertoon het en ook enkele positiewe reaksies op sommige praspollensoorte soos bevoorbeeld *Lolium perenne* en *Cynosurus*. Hierdie waarnemings was gevolglik aanleiding om aan 'n alimentêre oorgevoeligheid te dink, daar die begin reekse in hooi gesit het en o.a. gevoer was met brood en hawer; en temeer daar by nader ondersoek van die hooi ook geblyk het dat daar allerlei grassoorte o.a. Lolium perenne, Cynosurus en Phleum pratense ens. in te erken was. Vanaf die tyd was rekening gehou met die voeding van die diere en soos in die volgende hoofstuk bespreek sal word het dit lang geduur eerdat 'n geskikte grasvry en gramineeënvry voer vir die diere gevind was om 'n behoorlike tyd op te kon leef. Die gevolg van grasvry en gramineeënvry voer was dat geeneen van die proefdiere meer reaksies vertoon het op graspollensoorte nie, behalwe natuurlik spesifieke reaksies op die bepaalde graspollens waarmee die diere ingespuit was.

Tog was nog altyd by die meeste van hierdie proefdiere positiewe reaksies gesien op roggepollenekstrak en selfs ook nog by die latere reekse op grasvry en gramineeënvry voer sonder inspuitings met een of ander pollensoort, sodat aan die moontlikheid van 'n *aangebore* oorgevoeligheid vir roggepollen gedink was. Daar is wel probeer om hierdie

laaste vraagstuk op te los deur langdurige diëet reëling, maar egter sonder sukses. Gelukkig was verdere diëet reëling ook nie nodig gewees nie, daar die raaisel op 'n ander manier tot 'n oplossing gekom het, soos hieronder verder sal blyk.

Soos reeds in die literatuur oorsig (Hoofstuk I, § 3) vermeld is, het die Amerikaanse ondersoekers Coca en Grove en Walzer en Grove meegedeel dat die werksame stowwe in pollens nie eiwitte is nie, terwyl hoofsaaklik die ondersoekings van Farmer-Loeb (Hoofstuk I, § 3) net weer die teenoorgestelde bewys het.

Daar dit geblyk het dat die uteri van byna alle Guinese biggies reaksies vertoon het op Roggepollenekstrak was die gedagte dan ook eers dat hierdie pollen juis 'n geskikte is om proewe mee te doen oor die werking van verskillende dele van die pollen.

Dientengevolge is dan ook van Roggepollenekstrakte 3 % filtrate verkry, gepers deur 'n ultrafilter met „cellophaan" of „celloidin" as tussenmembraan.

Die uitkomste van hierdie proewe was, dat die uterusspiere van allerlei willekeurige Guinese biggies *nie reaksies vertoon het op die filterreste van roggepollenextrakte nie, terwyl altyd weer reaksies verkry was op die ultrafiltrate.* Die reaksies met die ultrafiltrate was ooreenkomstig met die reaksies op die volle ekstrakte. In aanmerking nou geneem die feit dat die ultrafilter die natiewe eiwitte, globuline, albumine en hoëre albumose teëhou en dat aantoonbaar was dat die filtrate nie reaksies vertoon het met fosforwolframsuur en sulfosalisielsuur nie, het die gedagtegang dan ook gegaan in die rigting van die Amerikaanse ondersoekers, n.l. dat dit nie die eiwitte is wat die reaksies verwek nie, temeer daar ook nog geblyk het dat deur die filtrate te kook gedurende 15 minute of te digereer met HCl-pepsine en „trypsine" hulle nie agteruit gegaan het in werksaamheid nie.

Hierdie gedagtegang het egter soos ons direk sal sien nie stand gehou nie. Cavia 93 (§ 3. B.) het die deurslag gegee deur die sterke gelykenis tussen die Roggepollenekstrakte

en Histamine reaksies, en daarom is ook meerdere punte van ooreenkoms gesoek. In die eerste plek deur bepaling van latente periodes.

Baie opvallend was by hierdie proewe ook weer die ooreenkoms tussen die Roggepollenekstrak en Histamine reaksies, as ook die latente periodes van hierdie twee stowwe. In die meeste gevalle was die latente periodes van Rogge selfs iets korter as van Histamine, soos blyk uit die newensstaande tabel I van 23 proewe wat verrig was. Tewens moet hier ook daarop gewys word dat die latente periodes van

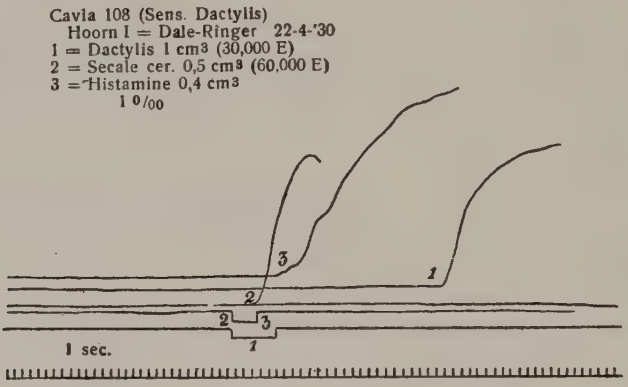

Fig. 6. Kurwehoogte natuurlike grote.

die spesifieke graspollen reaksies aanmerklik langer is as van Roggepollenekstrakte en Histamine, soos bevoorbeeld ook in tabel I aangegee is van 7 Dactylis en 7 Alopecurus spesifieke reaksies. 'n Voorbeeld hiervan sien ons in fig. 6 van Cavia 108 (Sens. Dactylis).

Gevolglik het die mening dan ook ontstaan dat in Roggepollenekstrak baie waarskynlik 'n Histaminagtige stof aanwesig moet wees en dit was dan ook aanleiding om proewe te verrig met diersoorte wat gramineeënvry voedsel gebruik. Vir hierdie proewe is gebruik gemaak van die uterushoorns van jong katte, en so het die opvatting dan ook nog meer steun gekry, nadat geblyk het dat die uterushoorns van jong katte inderdaad pragtige reaksies vertoon het op Rogge-

pollenekstrakte en ultrafiltrate. Ook van hierdie reaksies is die latente periodes bepaal en vergelyk met Histamine

Tabel I. LATENTE PERIODES.

	Aantal proewe.	Totaal aantal sekonde.	Gemiddelde aantal sekonde.
Histamine	23	117.5	5.1
pollen v. Secale cereale	23	104	4.5
pollen v. Dactylis . . .	7	245	35 (spesifiek)
pollen v. Alopecurus .	7	139	19.8 (spesifiek)

reaksies. Melding verdien dat die uterushoorns van jong katte selfs mooier reaksies vertoon op Roggepollenekstrak (ultrafiltrate) en Histamine as die uterushoorns van caviae.

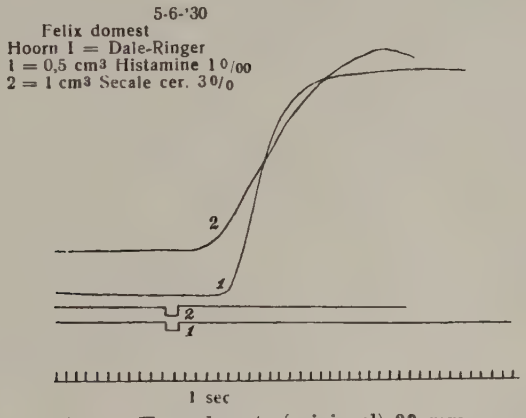

Fig. 7. Kurwehoogte (origineel) 33 mm.
„ hierbo is 30 mm.

Uit die agterstaande tabel II sien ons ook weer dat die Roggepollen reaksies iets vlugger optree as die Histamine reaksies by die uterushoorns van jong katte (Fig. 7).

Tabel II. LATENTE PERIODES.

	Aantal proewe.	Totaal aantal sekonde.	Gemiddelde aantal sekonde.
Histamine	5	25.5	5.1
pollen v. Secale cereale	5	17	3.4

As ons in die literatuur soek na ondersoekings oor die latente periode van die werking van histamine, dan vind ons iets dergeliks by MANWARING [1]), die verskil gevind het in die latente periodes van histamine en spesifieke oorgevoeligheidsreaksies, wat betref die bloeddrukdaling wat optree na intraweneuse injeksies van histamine en die bepaalde spesifieke antigene. Vir histamine meld hy 10—15 sekonde en vir spesifieke reaksies 40—45 sekonde.

Die reaksies van die uterusspiere by caviae en jong katte op ultrafiltrate van roggepollenekstrakte is nou meteen ook beter verklaarbaar, daar bekend is dat die ultrafilter o.a. histamine deurlaat, en dientengevolge ook die histaminagtige stof in roggepollenekstrak.

By die literatuurstudie oor die werking van histamine op gladde spiere, en veral van uterushoorns, in vitro, van caviae is belangrike gegewens gevind wat heeltemal overeenkom met waarnemings wat ons vroeër gesien het by die reaksies van roggepollenekstrakte, maar waarvan die betekenis vir ons toe nog nie bekend was nie. Vervolgens word die enkele punte van ooreenkoms hier dan nader bespreek. BISHOP en KENDALL [2]) wys op die ligte uitwasbaarheid van histamine; 'n waarneming wat ons ook steeds gevind het vir roggepollenekstrakte.

Herhaaldelike verversings van die Ringer vloeistof is tewens wenslik, daar bekend is uit die ondersoekings van

[1]) FELDBERG und SCHILF. „Histamine" 1930.
[2]) Americ. Jl. physiol. Vol. 85, 1928, 546.

ENGELHARD [1]) dat uterusspiere self 'n stof bevat, wat die outomatiese kontraksies van die spier kan verhoog.

OEHME [2]) het gesien dat proewe met histamine op één preparaat na eers sterkere reaksies, later kleinere sametrekkings kom.

Hierdie waarneming het ons vir roggepollenekstrakte ook gesien. Volgens OEHME tree gewennig teen histamine op. As 'n mens dus histamine langsaam toevoeg en met so'n klein dosis begin dat geen kontraksie optree nie, dan kan in totaal 'n groot hoeveelheid toegevoeg word sonder dat kontraksie van die uterushoorn optree. Bowendien het OEHME aangetoon dat histamine 'n potensiaalgif is, daar die prikkeldosis meerdere kere in dieselfde bad toegevoeg kan word en iedere keer 'n gelyke reaksie optree wat vanself weer oorgaan sonder verversing van die bad. BISHOP en KENDALL het aangetoon dat 'n geringe hoeveelheid histamine één enkele kontraksie veroorsaak, by iets hoër dosis sterkere kontraksie met ritmiese sametrekkings en by 'n nog grotere dosis nog sterker kontraksie met toniese sametrekkings. Met roggepollenekstrak 3 % is hierdie histaminereaksies nagedoen, waarby geblyk het dat die prikkeldosis vir die roggepollenekstrak 0.3 cm^3 was en waarop 'n mooi reaksie gevolg het. As 0.1 cm^3 toegevoeg was, dan het niks gebeur nie, die twede toevoeging van 0.1 cm^3 het ook nie reaksie veroorsaak nie en die derde toevoeging van 0.1 cm^3 het 'n baie swakke reaksie gegee. By toevoeging van 0.3 cm^3 sonder verversing het 'n mooi reaksie opgetree en het herhaaldelik opgetree by toevoeging van 0.3 cm^3 sonder verversing van die bad (Fig. 8). Die tonus van die spier het langsaam iets hoër geword en die kontraksies in opvolging iets kleiner. Hieruit blyk dus ook die potensiaalwerking van roggepollenekstrak. Toevoeging van 0.5 cm^3 roggepollenekstrak 3 % het 'n sterke reaksie gegee; toevoeging van 1 cm^3 roggepollenekstrak het nog 'n sterker reaksie veroorsaak en op 1,2 cm^3 het 'n maksimale reaksie opgetree.

1) Nederl. Tijdschr. v. Verlosk. en Gynaec. 27e jaarg. 1919, blds. 11.
2) Archiv f. Exper. Pathol. Bd. 72, 1913, 76.

Hierdie proewe is herhaaldelik gedoen en steeds dieselfde gesien.

Dan verdien ook nog melding dat enkele proewe gedoen was met die uterushoorns van 'n gryse muis, maar dit het geblyk dat die uterushoorns van hierdie diersoort, nie reageer het op Roggepollenekstrak en ook selfs nie op Histamine nie. Dat die uterusspiere van muise so sleg prikkelbaar is, selfs op Histamine, kan één van die redes wees waarom by hierdie diere ook spesifieke reaksies volgens die Dale-metode

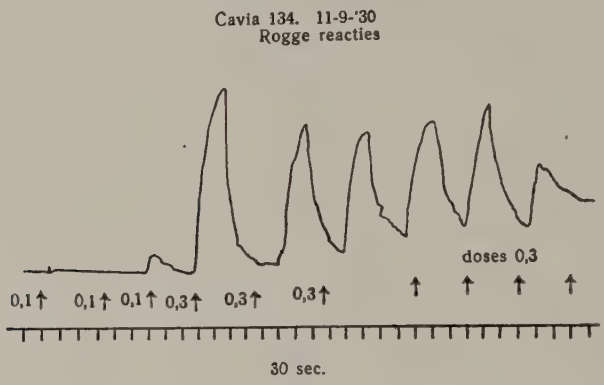

Fig. 8.

nie aantoonbaar is nie, soos o.a. uit ondersoekings van Longscope Spain en Grove [1]) geblyk het. Hierdie ondersoekers, eweas die meeste andere, kon wel die aanwesigheid van presipitine in die bloedsera van muise aantoon, maar dit het hulle nooit geluk om die diere anafilakties te maak of positiewe spesifieke reaksies vir perdeserum aan te toon nie volgens die Dale-metode. Die negatiewe reaksies van die uterusspiere van 'n muis op Histamine hoef nie die enigste oorsaak te wees, waarom spesifieke reaksies by hierdie diersoort nie aantoonbaar was nie, soos blyk uit proewe wat met katte verrig was.

So was dan bevoorbeeld 2 jong katte met Roggepollenekstrak, 1 met Alopecurus- en 1 met Dactylispollenekstrak

[1]) Jl. of Immunology. Vol. X. 1925. 440.

voorbehandel deur intraperitoneale injeksies, soos in die metodiek vermeld, maar al die uterusspiere van hierdie proefdiere was totaal negatief op die spesifieke antigene. Vir Roggepollen was in hierdie proewe natuurlik gebruik gemaak van ultrafilterreste, omdat immers geblyk het dat op die vol ekstrak altyd reaksies optree, ook by nie-voorbehandelde diere. Gevolglik kan katte dan ook baie waarskynlik nie met pollensoorte volgens die Dale-metode oorgevoelig gemaak word nie.

'n Ander moontlikheid is dat 'n te grote dosis histamine geneem is, want ABEL en MACHT [1]) het aangetoon dat uterushoorns van muise, alleen op baie geringe konsentrasie van histamine kontraheer, en op sterkere doses steeds remming tot verslapping optree. Hierdie ondersoekers het ook aangetoon dat baie sterk verdunde oplossings van histamine nog sterke reaksies veroorsaak by uterushoorns van caviae en muise en selfs 'n verdunning van 1/250,000,000 nog kontraksie van die uterushoorn van 'n cavia veroorsaak.

'n Verdunning gemaak van Roggepollenekstrak 1/10,000 het nog 'n sterke reaksie veroorsaak van 'n uterushoorn van 'n cavia.

Ook was met 'n stuk tuba Falloppii [2]), verwyder tydens 'n operasie by 'n vrou 56 jaar oud, met ovariaaltumor, enkele proewe gedoen; op 0,5 cm³ histamine 1 ‰ was alleen 'n baie slappe reaksie waarneembaar, terwyl op 2 en 3 cm³ Roggepollenekstrak 3 % resp. nie reaksies gesien was nie. Wel het 'n ligte reaksie opgetree op 6 cm³ Roggepollenekstrak, kamertemperatuur, maar deurdat ook 'n ooreenkomstige reaksie gesien was op 6 cm³ buffervloeistof, kamertemperatuur, is aan die reaksie op die Roggepollenekstrak nie waarde te heg nie. Verder het Professor Benjamins bowendien huidreaksies by gesonde persone gedoen, waaruit ook opvallend was die ooreenkoms tussen die reaksies van Roggepollenekstrak (1 % en 3 %) en histamine (1 ‰) (Fig. 9).

---

1) Jl. of Pharmac. and exp. therap. Vol. 14, 1920, p. 279.

2) Verkry deur die vriendelike meewerking van die operateur, professor Engelhard.

As kontrole behalwe buffervloeistof is ook gebruik gemaak van Dactylis- en Lolium-pollenekstrakte, wat egter steeds negatief was.

Volgens die gegewens van ELKELES [1]) verhinder 'n 1 $^0/_{00}$ „chloralose"-oplossing die kontraksies van uterusspiere op histamine en nie die op „acetylcholine" en „hypophysin" nie. Deur die „chloralose" op te los in spirit. absolut. word die spier gedood deur die alkohol. 'n 1 $^0/_{00}$ waterige oplossing

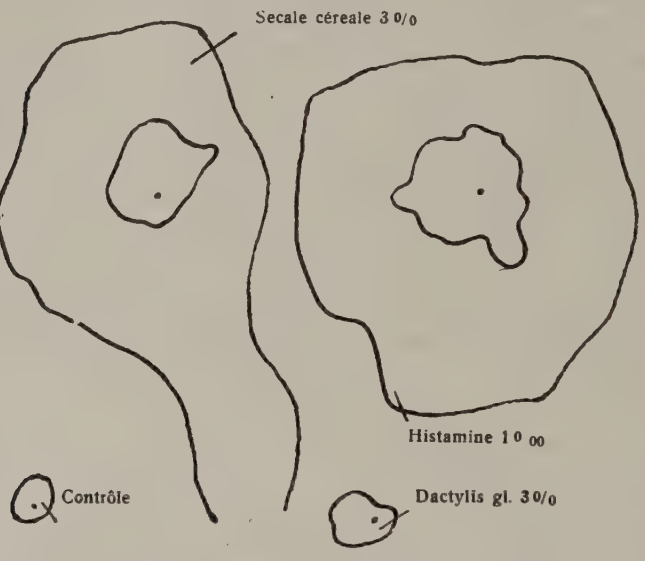

Fig. 9. Huidreaksies bij 'n normaal persoon.

van „chloralose" is in die bad met 'n uterushoorn gebring. Sowel vir histamine as Roggepollenekstrak en pituitrine was reaksies gesien, selfs ook nog in 'n 1 $^0/_0$ „chloralose"-oplossing.

Dat in Roggepollenekstrak, behalwe die spesifiek werksame stowwe, nog 'n aktiewe stof aanwesig is, blyk voldoende uit die voorgaande proewe, en ook dat die aktiewe stof deur ultrafilters gaan. Daarenteen het geblyk dat ultrafiltrate

---

[1]) Zeitschr. f. Immun. Forsch. Bd. 54. 1928, 471.

van verskillende graspollenekstrakte nooit reaksies verwek het op die uteri van caviae en katte nie, sodat 'n waarskynlik histaminagtige stof in graspollens nie aanwesig is nie, of indien wel, dan tog seker in so 'n minimale hoeveelheid, dat die uteri daar nie op reageer nie.

Verder biogemiese proewe oor die werksame stowwe van Roggepollen sal dan ook nog verrig moet word om na te gaan, of die genoemde stof histamine self is, of 'n sterk aanverwante verbinding.

Volgens die bogenoemde gegewens van die proewe wat verrig was met roggepollenekstrakte, is duidelik dat aan die spesiwisiteit van reaksies op volle roggepollenekstrak, van uterushoorns van caviae wat met roggepollenekstrak voorbehandel is gewees, heeltemal geen waarde te heg is nie. Om spesiwisiteit van roggepollen aan te kan toon, moet 'n mens dus eers die histaminagtige stof verwyder uit die ekstrakte deur middel van die ultrafilter; en dan die werking van die ultrafilterreste op uterushoorns van voorbehandelde caviae ondersoek. Vir hierdie doel was twee caviae, nl. 139 en 140, op die gewone wyse soos vroeër beskryf is, voorbehandel met roggepollenekstrak. Beide uterushoorns van cavia 139 het één keer 'n pragtige reaksie vertoon op 1 cm^3 ultrafilterres. 'n Twede toevoeging van die ultrafilterres was swak positief. By cavia 140 het alleen hoorn II één keer 'n matige positiewe reaksie vertoon op 1 cm^3 ultrafilterres.

Die reaksies op die ultrafilterreste het pas opgetree met 'n gemiddelde latente periode van 40 sekonde, in teenstelling met die vlugge reaksies op ultrafiltrate en volle ekstrakte, wat met 'n gemiddelde latente periode van 6 sekonde opgetree het.

Die latente periodes van die reaksies op ultrafilterreste van roggepollenekstrak is dus ooreenkomstig met latente periodes van die spesifieke reaksies op die graspollenekstrakte.

Dat die reaksies van die ultrafilterreste van roggepollenekstrak dus *spesifiek* is, blyk uit die later optreding van

die reaksies, en ook dat die reaksies slegs één keer, hoogstens 'n twede swakke reaksie, optree.

Nogmaals moet vermeld word dat ook uit hierdie proewe geblyk het, dat die roggepollenekstrak reaksies by voorbehandelde caviae, duidelik minder mooi is, as by nievoorbehandelde caviae.

Tenslotte sien ons in die onderstaande tabel van 42 Guinese biggies wat met verskillende graspollensoorte gesensibiliseer was, dat 'n gemiddelde aantal van 22 spesifiek positiewe reaksies opgetree het.

Tabel III.

Sens. pollens.	Aantal proefdiere.	Aantal spesifiek positief.
Holcus mollis	9	2
Festuca rubra	4	3
Cynosurus crist.	2	1
Alopecurus prat.	8	6
Phleum pratense	4	1
Dactylis glomerata	15	9
	42	22

HOOFSTUK IV.

BESPREKING VAN DIE RESULTATE.

§ 1. DIE VRAAG OOR DIE SOORTSPESIWISITEIT VAN DIE GRASPOLLENS.

Soos ons uit die resultate sien is die gemiddelde aantal *spesifiek* positiewe reaksies op verskillende graspollens, 22 uit 'n aantal van 42 Guinese biggies en dus 'n gemiddelde persentasie van 52.3 %. Die uitkomste van die afsonderlike reekse proefdiere leer egter dat die aantal spesifiek positiewe reaksies baie hoër kan wees, mits die diere voorbehandel word soos vermeld in § 3. By al die reekse proefdiere op grasvry- en gramineeënvryvoer en met een of ander graspollensoort ingespuit was alleen positiewe reaksies gesien op die spesifieke antigene, terwyl die uterusspiere in vitro steeds negatief was op die ander toegevoegde graspollensoorte.

Bowendien leer die proewe ook dat desensibilisasie van 'n uterusspier in vitro, wat oorgevoelig gemaak is vir pollen volgens die wetmatigheid van Coca en Kosakai (l.c.) aantoonbaar is en ooreenkomstig dus met 'n uterusspier in vitro, wat vir dierlike eiwit oorgevoelig gemaak is. Met Roggepollen is dit egter *nie die geval nie* deurdat *herhaaldelike* reaksies, 7 maal agtermekaar aangetoon, optree selfs al word vir die opvolgende doses kleiner hoeveelhede geneem as vir die begin dosis. Deur die aanwesigheid van 'n aktiewe stof in Roggepollenekstrak soos reeds beskryf is, is aan die spesifieke reaksies op hierdie pollenekstrak op die gewone wyse verkry, dan ook totaal nie waarde te heg nie. Hoewel

in die graspollenekstrakte 'n dergelike aktiewe stof as in Roggepollenekstrak nie aantoonbaar is nie, moet tog aan die moontlikheid gedink word dat daar nog meer pollensoorte bestaan wat ook 'n dergelike stof kan bevat. Van groot belang is dit dan ook by oorgevoeligheidsproewe volgens die Dale-metode om kontrole proewe met normale Guinese biggies te doen. 'n Maatreël wat waarskynlik deur baie van die vroeër ondersoekers oor die hoof gesien was en aanleiding kon gee tot verkeerde konklusies wat betref die spesifieke reaksies. Baie belangrik is ook kontrole proewe waarby latente periodes bepaal word, daar geblyk het dat spesifieke reaksies aanmerklik later optree as Histamine- en Roggepollen-reaksies. Juis die besondere reaksies op Roggepollenekstrakte het geleer dat 'n mens baie versigtig moet wees eerdat spesifieke reaksies op pollenekstrakte aangeneem kan word.

§ 2. DIE ROL WAT DIE VOEDING SPEEL BY CAVIAE MET BETREKKING TOT DIE POLLENOORGEVOELIGHEID.

In die reël sit Guinese biggies in hooi en word gevoer met brood, hawer, koolrape ens. By die beginreekse was die diere dan ook op die gewone wyse gevoer. Opvallend was egter al gou dat die diere, behalwe op die spesifieke pollen antigene, ook op willekeurige ander pollensoorte reaksies vertoon het. As oorsaak hiervoor sou een van twee faktore moontlik kon wees, of ook beide, hetsy apart of gesaamlik, van invloed kon wees:

I. *'n Alimentêre oorgevoeligheid.*

II. *Onderlinge verwantskappe tussen die verskillende pollensoorte.*

I. Bespreek ons nou die eerste moontlikheid, dan is soos uit die resultate blyk nie te twyfel aan 'n alimentêre oorgevoeligheid nie, want van 8 Guinese biggies wat in hooi gesit het sonder inspuitings met een of ander pollenekstrak het 3 duidelik positiewe reaksies vertoon op *Lolium perenne* (Caviae nos. 51; 52; 54). Cavia 54 het bowendien ook één

keer positief reageer op *Dactylis* en één keer op *Phleum pratense* pollenekstrak.

By nader ondersoek van die hooi, waarvan die diere steeds gevreet het, was hierdie grassoorte waarop positiewe reaksies gesien was ook daarin te erken. Dat die veronderstelling ook juis was, blyk uit al die negatiewe resultate op die verskillende graspollensoorte, met Guinese biggies wat van jongs af aan op garsstrooi of turfstrooisel gesit het en gevoer was met grasvry en gramineeënvry voedsel. Die reaksies op Roggepollenekstrakte ook by hierdie reekse proefdiere het pas teen die einde geblyk heeltemal iets anders te wees, soos reeds by die resultate beskryf is, maar is aanvanklik tog aanleiding gewees, deurdat toe gedink was aan die moontlikheid van 'n aangebore oorgevoeligheid vir Rogge, om 'n grasvry en gramineeënvry diëet te vind waarop die diere 'n lang tyd kon leef en ewentueel ook vermenigvuldig. Hierdie diëet reëling van die diere is egter lang nie so eenvoudig gewees nie, want weldra het geblyk, deur die diere op garsstrooi of turfstrooisel te sit en te voer met ertappels, klawer, leontodon (soet distel), koolrape, dat hulle reeds na enkele dae al agteruit gegaan het en die meeste binne $1^1/_2$ maand ook dood gegaan het. Later het geblyk dat dit ook gelê het aan eiwit- en vitaminegebrek, en daar is toe probeer 'n surrogaat te vind in grondnotemeelkoeke (bevat $\pm$ 40 % eiwit). Ook dit het nie verbetering gegee in die diëet nie want die koeke was eers gewoon met water klaargemaak, met die gevolg, dat hulle gou uitgedroog en hard geword het en die diere daar dan ook so goed as niks van gevreet het nie. Die grondnotemeelkoeke is toe smaakliker klaargemaak en wel met melk, planteboter, wit en geel van eiers en 'n weinig suiker.

Hiervan het die diere volop gevreet en tewens was die diëet meteen baie ryker aan eiwit en vitamine. Deur verder geelwortels en suikerbiete toe te voeg aan die diëet het die diere ook baie beter in lewe gebly en selfs toegeneem in gewig. Met hierdie voeding kon die diere ook maandelang in lewe gehou word, maar voortplanting van die diere het

nie plaas gevind nie, hoewel die vernaamste voortplantingsvitamine (hoofsaaklik A) tog voldoende aanwesig was soos uit die onderstaande tabel blyk.

VITAMINES.

	A.	B.	C.
Geelwortel	+++	++	++
Grondnoot	+	++	0
Plantaardige boter	0—+	0	0
Geel van eier	+++	++	0

So was bevoorbeeld twee caviae, 'n jong wyfie, naamlik cavia 93, en 'n mannetje as kweek diere op turfstrooisel gesit en gevoer met bogenoemde diëet. Die eerste maande was die diere springlewendig, maar na ± 6 maand het eers die mannetjie daagliks agteruit gegaan, nie meer gevreet nie, en tenslotte doodgegaan. Dieselfde lot het ook die wyfie bedreig wat vinnig agteruit gegaan het, en daarom is besluit om haar maar te gebruik vir 'n proef, veral toe nog met die oog op die Rogge reaksies. Melding verdien dat by die oopmaak van die buik tot verrassing 3 dooie embryos gevind was in die een hoorn, sodat die nie-swanger hoorn gebruik was vir die proef, en soos ons gesien het by die resultate, was die hoorn op al die toegevoegde graspollensoorte negatief terwyl duidelik reaksies gesien was op Roggepollenekstrak, wat dan ook aanleiding was om die Roggepollen reaksies as heeltemal iets anders te beskou as alimentêre oorgevoeligheidsreaksies en die proefnemings in 'n ander rigting gestuur het, soos reeds bespreek is in Hoofdstuk III, § V.

Die mooiste bewys van alimentêre oorgevoeligheid blyk egter uit die reekse uitsluitend gevoer met één grassoort sonder inspuitings en verder op grasvry en gramineeënvry diëet.

So was bevoorbeeld by cavia 126, één van die drie proef-

diere gevoer met Dactylisgras en toevoering met Dactylispollenekstrak per os, één keer 'n pragtige positiewe reaksie gesien op Dactylispollenekstrak. 'n Twede reaksie het ook nog opgetree op 'n iets grotere dosis Dactylispollenekstrak, maar hierdie reaksie was baie swakker as die eerste. Owerigens het cavia 126 ook 'n mooi positiewe reaksie vertoon op Lolium perenne-pollenekstrak; die betekenis hiervan word egter in die volgende paragraaf bespreek.

By die reeks met Lolium gras gevoer en toevoering per os van Loliumpollenekstrak het by 2 van die 4 proefdiere mooi positiewe reaksies opgetree vir *Lolium.*

Volgens hierdie reekse proefdiere blyk duidelik dat 'n vry hoë persentasie positief spesifieke reaksies optree deur die werksame stowwe alleen alimentêr toe te dien.

'n Moontlike verklaring vir die negatiewe reaksies op die verskillende graspollensoorte by die reekse op grasvry en gramineeënvry voer sonder inspuitings sou miskien kon wees minder goed ontwikkelde uterushoorns, soos inderdaad ook meermale gesien was by hierdie reekse, maar dan is daar tog weer by dergelike reekse, wel ingespuit met 'n bepaalde antigeen, ook mooi spesifieke reaksies gesien, bevoorbeeld vir perdeserum maar tewens ook vir graspollensoorte.

II. *Onderlinge verwantskappe tussen die verskillende graspollensoorte.*

Benjamins, Idzerda en Uittien, en later Benjamins, Idzerda en Nienhuis, soos vermeld by die inleiding, het deur huidreaksies reeds aangetoon dat, hoewel 'n onderlinge verwantskap tussen die gramineeënsoorte aangeneem moet word, die afsonderlike gramineeën tog spesifiek werkende stowwe bevat, wat onderling verskil in hoedanigheid. Volgens die Dale-metode was by enkele caviae ook resultate verkry wat op dieselfde wyse verklaar moet word. Dit was cavia 121 en 126. Cavia 121 het op Dactylisgras gesit, verder grasvry en gramineeënvry diëet en bowendien intraperitoneale inspuitings met Dactylispollenekstrak gekry. Die proewe

by hierdie dier het die volgende opgelewer: Hoorn I het 'n mooi reaksie vertoon op *Lolium perenne.* Toevoeging van Dactylispollenekstrak het daarna ook 'n positiewe reaksie vertoon. By Hoorn II was eers *Dactylis*pollenekstrak toegevoeg waarop 'n mooi positiewe reaksie gevolg het. Latere toevoeging van *Lolium perenne* was egter negatief. Cavia 126 was voorbehandel deur haar uitsluitend Dactylisgras te laat vreet, en toevoering per os van Dactylispollenekstrak, verder op die gramineeënvry diëet geleef. Beide, *Lolium*- en *Dactylis*-pollenekstrak het 2 keer positiewe reaksies vertoon. Die eerste keer was die reaksies sterk positief, die tweede keer was die reaksies swak positief. Volgens hierdie resultate moet dan ook baie waarskynlik 'n onderlinge verwantskap aangeneem word tussen Dactylis glomerata en Lolium perenne.

§ 3. Die invloed van alimentêre en tewens parenterale toediening van die werksame stowwe.

Daar, soos ons hierbô gesien het, 'n alimentêre oorgevoeligheid bestaan, was dit ook van belang om reekse Guinese biggies voor te behandel deur hulle so jonk moontlik op 'n uitgesoekte grassoort te sit, verder grasvry en gramineeënvry voer, en tewens na verloop van enkele weke bowendien intraperitoneale injeksies te gee met die gelyksoortige pollenekstrak. Hierdie wyse van voorbehandeling het ook belangrike voordele, bô die totale grasvry en gramineeënvry reekse. Die Guinese biggies sit baie warmer en dis ook meer in die aard van die diere om in hooi te sit, gedurig daarvan te kan vreet, sodat dit dan ook 'n belangrike deel van hulle voeding uitmaak. Deur die diere nou ook op 'n uitgesoekte grassoort te sit het geblyk dat hulle die verdere grasvry en gramineeënvry voedsel baie goed verdra het. Die uitkomste van die proewe met hierdie reekse diere het ook 'n baie hoër persentasie spesifieke positiewe reaksies opgelewer as al die ander metodes.

Van die 2 caviae met Alopecurus voorbehandel het beide pragtige spesifieke reaksies vertoon, en so ook 5 van 6 Guinese biggies met Dactylis voorbehandel.

Om spesifieke reaksies vir pollensoorte aan te kan toon volgens die Dale-metode, verdien hierdie wyse van voorbehandeling dan ook na my mening die voorkeur.

HOOFSTUK V.

SAMEVATTING.

Volgens die resultate van die proewe, soos in hierdie proefskrif meegedeel is, blyk vernaamlik:

1. Dat caviae aktief oorgevoelig gemaak kan word met gramineeënpollens volgens die Dale methode.

2. Dat die positiewe reaksies van die gramineeënpollenekstrakte *spesifiek* is, deurdat desensibilisasie van die uterushoorns in vitro optree, soos die ervaring met uterusspiere, in vitro, wat vir ander proteïne oorgevoelig gemaak was, geleer het.

3. Dat daar *soortspesiwisiteit* vir gramineeënpollens bestaan, wat betref die verwek van oorgevoeligheid bij caviae; dog verder volgens die proewe waarskynlik 'n verwantskap tussen *Dactylis* en *Lolium* aangeneem moet word.

4. Dat 'n alimentère oorgevoeligheid by caviae bestaan, omdat:

a) Hooieters sonder inspuitings positiewe reaksies vertoon op willekeurige graspollenekstrakte, terwyl by reekse op grasvry en gramineeënvry voer, dit nie die geval is nie.

b) deur parenterale en tewens enterale toediening van die werksame stowwe, die aantal spesifiek positiewe reaksies van uterusspiere, in vitro, baie hoër word.

c) deur voeding op één grassoort, vir die bepaalde grassoort positiewe reaksies optree.

5. Dat in Roggepollenekstrakte, behalwe spesifiek werkende stowwe, 'n baie aktiewe stof aanwesig is, wat nie in

graspollenekstrakte aantoonbaar is nie, en biologies enige reaksies, eweas enkele eienskappe met Histamine, ooreenkomstig het, soos:

a) prompte reaksies van uterushoorns van caviae en katte en ook van die derms van caviae; herhaalde kere agtermekaar moontlik met afneming van die kontraksie grote.

b) dieselfde latente periodes van uterushoorns van caviae en katte in vergelyking met spesifieke oorgevoeligheidsreaksies.

c) dieselfde huidreaksies [1]) by gesonde persone, in teenstelling met ander pollenekstrakte.

d) passeerbaarheid van „cellophaanultrafilter".

e) resistent teen verwarming op 100° C.

f) resistent teen vertering met HCl-pepsine en „trypsine".

g) gemaklike uitwasbaarheid.

h) potensiaalwerking van die gif.

6. Dat die aantal ongeskikte proefdiere, selfs van caviae oor 300 g. in gewig, tot 'n minimum beperk kan word, deur in die gevalle waar die spiere onrustig is te ververs met kalkloos Ringer, totdat die uterushoorns rustig word en dan toevoeging van 0,06 $CaCl_2$ per liter. Hierdie wyse van kalmering van die uterushoorns het seker nie 'n nadelige invloed op die spesifieke reaksies nie.

Röntgenbestraling van die ovaria en ovariotomie is ook geskikte metodes hiervoor.

---

[1]) Natuurlik is hiervoor nog meerdere proewe nodig om nader te identifiseer.

SUMMARY.

The salient features of this thesis are as follows:

1. That active hypersensitiveness to grass pollens can be induced in Guinea pigs according to the Dale method.

2. That the positive reactions on grass pollens are *specific*, because desensitization of a pollen sensitive uterus in vitro takes place in the same way as in the case with uteri sensitized for other proteins.

3. That grass pollens contain specific antigens which cause hypersensitiveness in Guinea pigs, and furthermore the experiments have shown that Dactylis and Lolium probably also contain common antigens.

4. That an alimentary hypersensitiveness to pollens is present in Guinea pigs because:
   a. Hayeaters, without inoculations, show positive reactions on different pollens, whereas this is not the case with series on a non-grass diet.
   b. When the active substances are given both parenterally and enterally the number of specific positive reactions is greatly increased.
   c. Feeding on one grass sort only and further a non-grass diet gives positive reactions with the pollen of the selected grass.

5. That rye pollen extracts, besides specific antigens, also contain a very active substance, which cannot be proved present in the grass pollen extracts and which has several biological reactions and properties in common with histamine, as for e.g.

a. Immediate reactions of the uteri of Guinea pigs and cats, and also of the guts of Guinea pigs; these reactions can be repeatedly obtained, with the result however, that the contractions gradually become smaller.

b. the same short latent periods of the uteri of Guinea pigs and cats, in comparison with the longer latent periods of specific hypersensitive reactions.

c. the same skin reactions [1]) in normal persons in contrast with the negative results of other pollen extracts.

d. passing through the ultrafilter (cellophan).

e. resistance towards boiling at 100° C.

f. resistance towards HCl—pepsine and trypsine ferments.

g. the ease with which it can be washed out.

6. That the number of unavailable animals even of Guinea pigs over 300 g. in weight can be reduced to a minimum if in those cases where the uteri are in heat, the bath is emptied and refilled with Ringer free of Calcium until the uteri are still and then 0.06 $CaCl_2$ per liter added to each of the baths.

This method of calming the uterus has certainly no ill effects on the specific reactions.

Röntgen castration and ovariotomy have also favourable influences.

---

1) More experiments for further identification of the skin reactions are however still to be performed.